

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 04 mai 1999 (04.05.99)

Demande internationale no PCT/FR98/01556	Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339229/16886
---	---

Date du dépôt international (jour/mois/année) 16 juillet 1998 (16.07.98)	Date de priorité (jour/mois/année) 16 juillet 1997 (16.07.97)
---	--

Déposant MEINIEL, Annie etc

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

15 février 1999 (15.02.99)

dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection a été faite

n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse	Fonctionnaire autorisé Sean Taylor
--	---------------------------------------

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

2600714

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

M-H
PCTNOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT
D'UN CHANGEMENT(règle 92bis.1 et
instruction administrative 422 du PCT)Date d'expédition (jour/mois/année)
21 janvier 2000 (21.01.00)Référence du dossier du déposant ou du mandataire
339229/16886Demande internationale no
PCT/FR98/01556

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques
Cabinet Regimbeau
26, avenue Kléber
F-75116 Paris
FRANCE

NOTIFICATION IMPORTANTE

Date du dépôt international (jour/mois/année)
16 juillet 1998 (16.07.98)

1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne:

 le déposant l'inventeur le mandataire le représentant commun

Nom et adresse

UNIVERSITE D'AUVERGNE
49, boulevard François-Mitterand
F-63000 Clermont-Ferrand
FRANCE

Nationalité (nom de l'Etat)	Domicile (nom de l'Etat)
FR	FR
no de téléphone	
no de télécopieur	
no de télécopieur	

2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne:

 la personne le nom l'adresse la nationalité le domicile

Nom et adresse

NUCLEICA
Biopôle Clermont-Limagne
F-63360 Saint-Beauzire
FRANCE

Nationalité (nom de l'Etat)	Domicile (nom de l'Etat)
FR	FR
no de téléphone	
no de télécopieur	
no de télécopieur	

3. Observations complémentaires, le cas échéant:

4. Une copie de cette notification a été envoyée:

 à l'office récepteur aux offices désignés concernés à l'administration chargée de la recherche internationale aux offices élus concernés à l'administration chargée de l'examen préliminaire international autre destinataire:Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

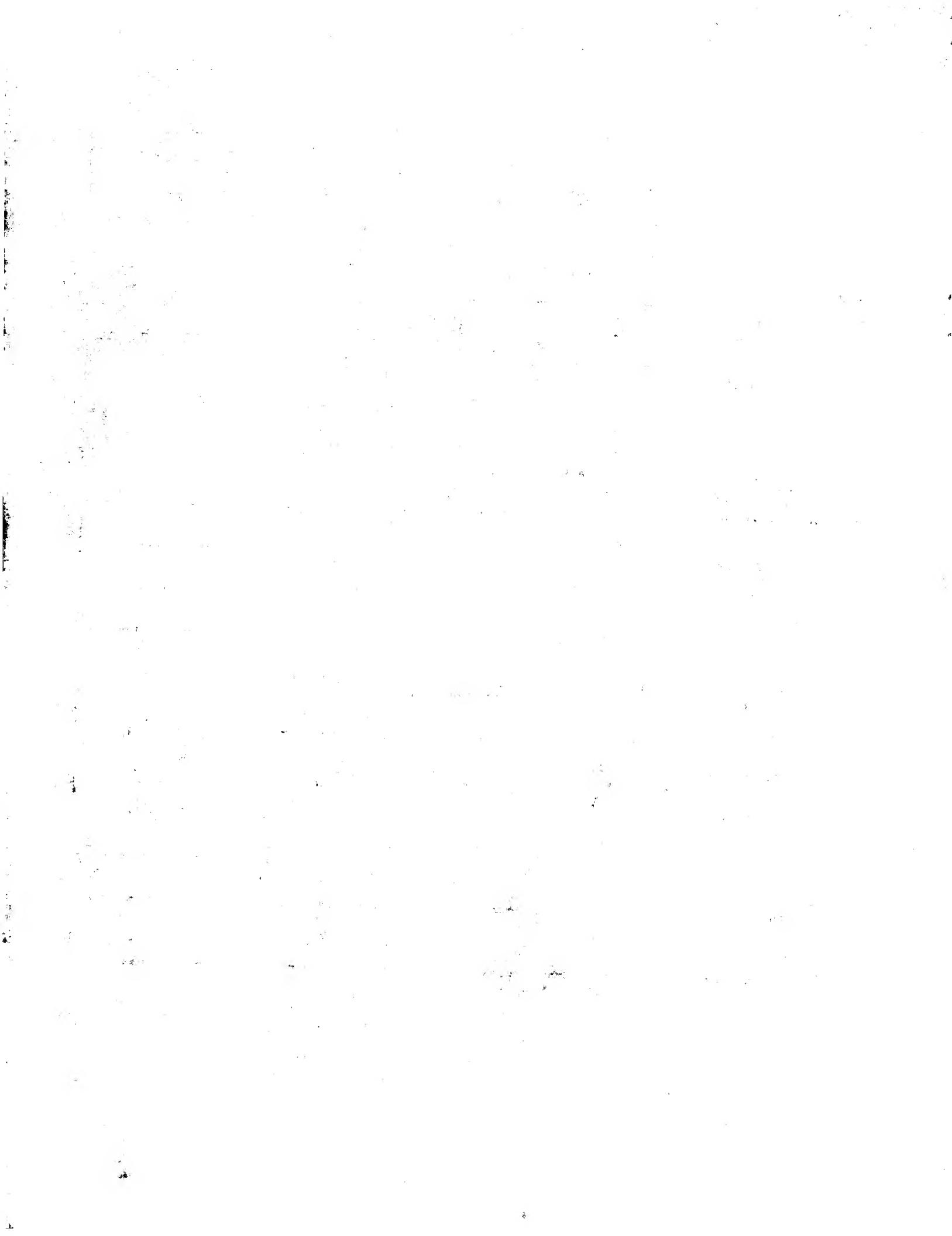
Fonctionnaire autorisé:

R. Raissi

no de télécopieur (41-22) 740.14.35

no de téléphone (41-22) 338.83.38

003065037



TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION DE L'ENREGISTREMENT
D'UN CHANGEMENT(règle 92bis.1 et
instruction administrative 422 du PCT)

Date d'expédition (jour/mois/année)
21 janvier 2000 (21.01.00)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire
339229/16886

Demande internationale no
PCT/FR98/01556

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques
Cabinet Regimbeau
26, avenue Kléber
F-75116 Paris
FRANCE

NOTIFICATION IMPORTANTE

Date du dépôt international (jour/mois/année)
16 juillet 1998 (16.07.98)

1. Les renseignements suivants étaient enregistrés en ce qui concerne:

le déposant l'inventeur le mandataire le représentant commun

Nom et adresse

UNIVERSITE D'AUVERGNE
49, boulevard François Mitterrand
F-63000 Clermont-Ferrand
France

Nationalité (nom de l'Etat)	Domicile (nom de l'Etat)
FR	FR
no de téléphone	
no de télécopieur	
no de téleimprimeur	

2. Le Bureau international notifie au déposant que le changement indiqué ci-après a été enregistré en ce qui concerne:

la personne le nom l'adresse la nationalité le domicile

Nom et adresse

INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET
DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM)
101, rue de Tolbiac
F-75654 Paris Cédex 13
FRANCE

Nationalité (nom de l'Etat)	Domicile (nom de l'Etat)
FR	FR
no de téléphone	
no de télécopieur	
no de téleimprimeur	

3. Observations complémentaires, le cas échéant:

4. Une copie de cette notification a été envoyée:

<input checked="" type="checkbox"/> à l'office récepteur	<input type="checkbox"/> aux offices désignés concernés
<input type="checkbox"/> à l'administration chargée de la recherche internationale	<input checked="" type="checkbox"/> aux offices élus concernés
<input type="checkbox"/> à l'administration chargée de l'examen préliminaire international	<input type="checkbox"/> autre destinataire:

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé:

R. Raissi

no de téléphone (41-22) 338.83.38

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS 09/462909
PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

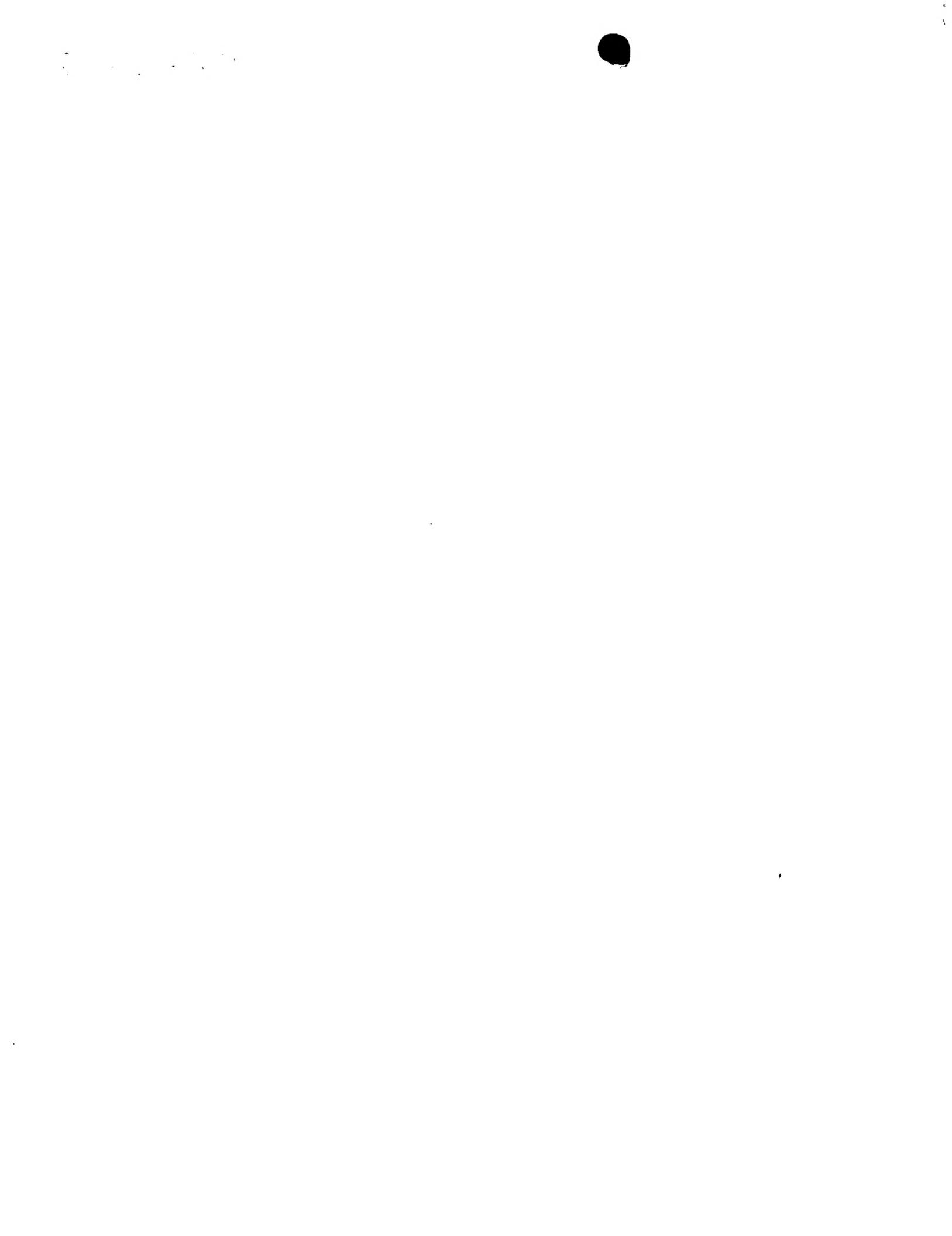
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 338229/16886	POUR SUITE voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après A DONNER	
Demande internationale n° PCT/FR 98/ 01556	Date du dépôt international(jour/mois/année) 16/07/1998	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 16/07/1997
Déposant UNIVERSITE D'AUVERGNE et al.		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend _____ 4 _____ feilles.

Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche(voir le cadre I).
 2. Il y a absence d'unité de l'invention(voir le cadre II).
 3. La demande internationale contient la divulgation d'un listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés et la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage de séquence
 - déposé avec la demande internationale
 - fourni par le déposant séparément de la demande internationale
 - sans être accompagnée d'une déclaration selon laquelle il n'inclut pas d'éléments allant au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée.
 - transcrit par l'administration
 4. En ce qui concerne le titre, le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.
 Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:
 5. En ce qui concerne l'abrégué,
 - le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
 - le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.
 6. La figure des dessins à publier avec l'abrégué est la suivante:
 Figure n° _____
 - suggérée par le déposant.
 - parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
 - parce que cette figure caractérise mieux l'invention.
- Aucune des figures n'est à publier.



Cadre III TEXTE DE L'ABREGE (suite du point 5 de la première feuille)

La présente invention concerne notamment de nouveaux peptides et polypeptides présentant au moins la séquence en acides aminés suivantes:

-W-S-A1-C-S-A2-C-G-

dans laquelle A1 et A2 sont des séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés, utiles notamment à titre de médicaments dans les thérapies impliquant la régénération des cellules du système nerveux, dans le traitement des neuroblastomes, et utiles également comme additifs dans les cultures de cellules nerveuses.



RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR 98/01556

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 C07K14/78 C12N15/63 A61K38/39

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 443 404 A (GRACE W R & CO ; PENNSYLVANIA MED COLLEGE (US)) 28 août 1991 voir le document en entier ----	1-8
Y	KLAR E.A.: "F-Spondin: a gene expressed at high levels in the floor plate encodes a secretion protein that promotes neural cell adhesion and neurite extension" CELL, vol. 69, 3 avril 1992, pages 95-110, XP002059005 NA US voir le document en entier ----	9-15
Y	----- -/-	9-15

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

16 novembre 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

01/12/1998

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

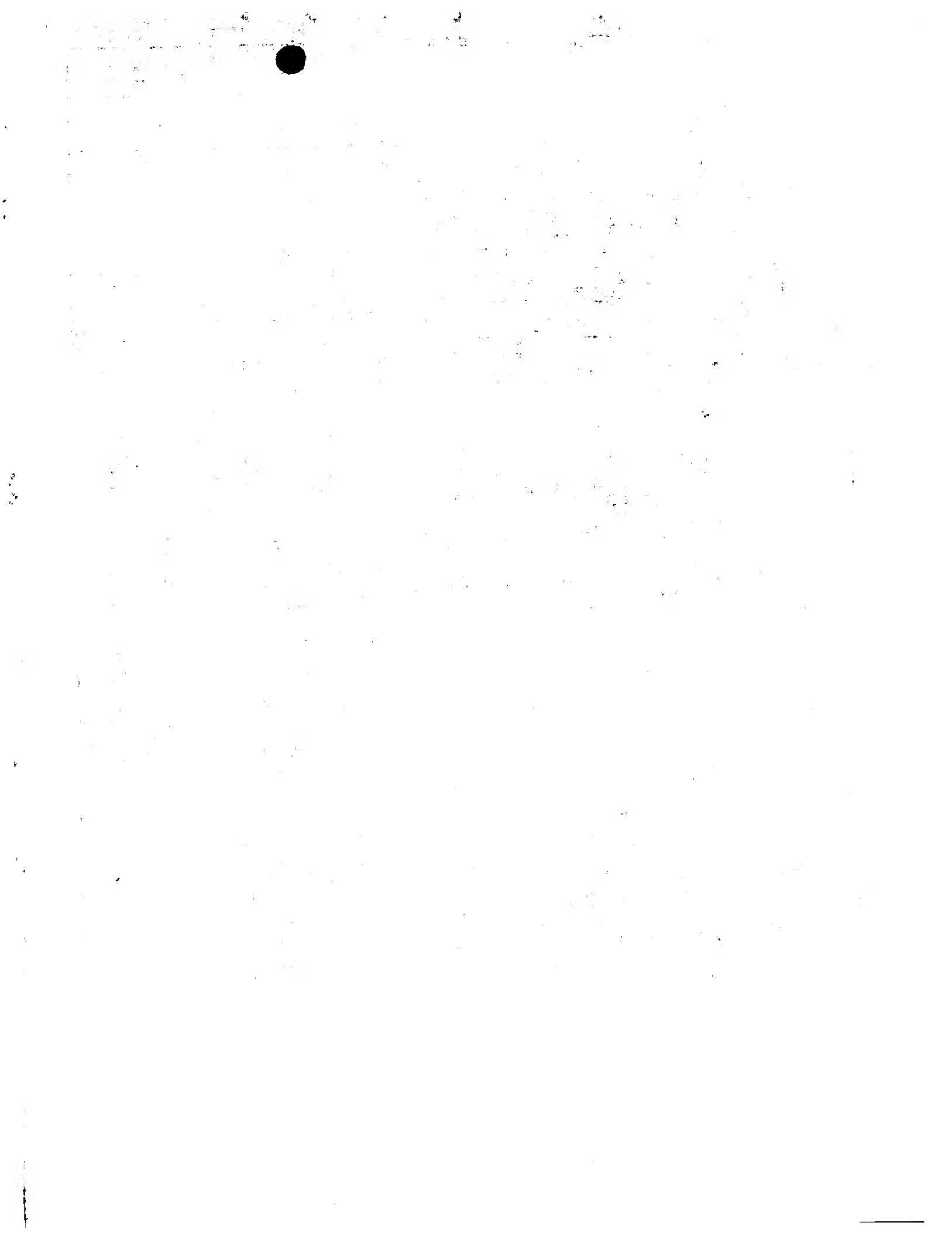
Groenendijk, M



RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR 98/01556

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	GOBRON E.A.: "SCO-spondin: a new member of the thrombospondin family secreted by the subcommissural organ is a candidate in the modulation of neuronal aggregation" JOURNAL OF CELL SCIENCE, vol. 109, 1996, pages 1053-1061, XP002059006 cité dans la demande voir le document en entier ---	9-15
X	MOR E.A.: "Induction of neonatal tolerance by plasmid DNA vaccination of mice" J.CLIN.INVEST., vol. 98, no. 12, 15 décembre 1996, pages 2700-2705, XP002084526 peptide 21 voir page 2701, colonne 1 ---	1,8,13
X	WO 93 00430 A (RECH SCIENT SNRS CENTRE NAT DE) 7 janvier 1993 See especially page 42, enchainement XXX and XXXI ---	1
A	WO 94 06464 A (UNIV NEW YORK) 31 mars 1994 voir revendication 8; tableau 1 -----	1,2,4,8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/01556

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0443404 A	28-08-1991	US 5190918 A		02-03-1993
		US 5200397 A		06-04-1993
		CA 2036093 A		23-08-1991
		JP 6107559 A		19-04-1994
		US 5426100 A		20-06-1995
		US 5648461 A		15-07-1997
WO 9300430 A	07-01-1993	FR 2678283 A		31-12-1992
		EP 0546149 A		16-06-1993
WO 9406464 A	31-03-1994	AU 5130793 A		12-04-1994



09/62909 19-T

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 21 OCT 1999
WIPO PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339229/16886	POUR SUITE A DONNER	voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)
Demande internationale n° PCT/FR98/01556	Date du dépôt international (jour/mois/année) 16/07/1998	Date de priorité (jour/mois/année) 16/07/1997
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K14/78		
Déposant UNIVERSITE D'AUVERGNE et al.		

<p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 5 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent 5 feuilles.</p>
<p>3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> I <input checked="" type="checkbox"/> Base du rapport II <input type="checkbox"/> Priorité III <input type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle IV <input type="checkbox"/> Absence d'unité de l'invention V <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration VI <input type="checkbox"/> Certains documents cités VII <input type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationale VIII <input type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 15/02/1999	Date d'achèvement du présent rapport 25.10.99
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international: Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Ury, A N° de téléphone +49 89 2399 8411



• E 0 2 C A 0 0 0

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/FR98/01556

i. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initiallement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

Description, pages:

1-13 version initiale

Revendications. N°:

- ## 2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- de la description, pages :
 - des revendications, n°s :
 - des dessins. feuilles :

3. Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

- #### 4. Observations complémentaires, le cas échéant :

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications	9-12
	Non : Revendications	1-8, 13-15
Activité inventive	Oui : Revendications	
	Non : Revendications	1-15
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications	1-15
	Non : Revendications	

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/01556

2. Citations et explications

voir feuille séparée

Point V.

Il est fait référence aux documents suivants:

D1: EP 0443404

D2: Mor et al., J. Clin. Invest., 98(12), 1996, pp.2700-05

D3: WO 93/00430

D4: Gobron et al., J. Cell Science, 109, 1996, pp.1053-61

D5: Klar et al., Cell, 69, 1992, pp.95-110.

- I) 1) Le peptide p4 (...-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G...) divulgué dans D1 (page 7) entre dans le cadre des revendications 1, 4 et 7. L'objet des revendications 1, 4 et 7 n'est donc pas nouveau (Article 33.2 PCT). Les compositions pharmaceutiques décrites page 3, lignes 8-12 de D1 détruisent la nouveauté de la revendication 8. Dans la mesure où le terme **additif** ne confère aucune caractéristique distinctive par rapport au peptide seul ou présent dans une composition pharmaceutique, les peptides p17, p4 et p12 de D1 détruisent la nouveauté de la revendication 13.
- 2) Le peptide 21 mentionné dans le document D2 (page 2701, colonne 1) ne correspond pas au "disclaimer" de la ligne 13 de la revendication 1. Ce "disclaimer" n'est donc pas acceptable. Par voie de conséquence, le peptide 21 détruit la nouveauté des revendications 1, 7, 8 et 13.
- 3) Les peptides XXX et XXXI décrits page 42 de D3 détruisent la nouveauté de la revendication 13.
- 4) La protéine SCO-spondine (qui est également un peptide; aucune définition généralement acceptée dans l'état de la technique ne permet de différencier un peptide d'une protéine) présente la séquence en acides aminés SEQ ID n°8 (voir D4, Fig.3B, résidus nos. 762-813). Le peptide SCO-spondine détruit donc la nouveauté des revendications 1-7 et 13. A noter également que le peptide F-spondine (D5, Fig.5) anticipe l'objet des revendications 1, 2, 4, 7 et 13 compte tenu de la présence dans la F-spondine

des séquences correspondant aux résidus nos. 500-556 et nos. 613-666.

5) Des vecteurs d'expression contenant les séquences spondine sont décrits dans D4 et D5. Ceci détruit la nouveauté des revendications 14 et 15.

II) La F-spondine est décrite dans D5 comme ayant les propriétés de promouvoir l'adhésion des cellules neuronales et d'augmenter la pousse neuritique (voir titre), y compris la croissance axonale (voir résumé). Par ailleurs, D5 indique que les domaines impliqués dans ces propriétés pourraient être les motifs TSR (voir page 105), à savoir des motifs correspondant aux polypeptides revendiqués dans les revendications 1-7. Il semble par conséquent que les utilisations de ces polypeptides à des fins médicales telles que revendiquées dans les revendications 9-12 ne fassent pas preuve d'activité inventive (Article 33.3 PCT). En effet, l'homme du métier, désireux d'identifier des polypeptides actifs dans la régénération du système nerveux et ayant connaissance de l'enseignement de D5 serait, par des expériences de routine, arrivé à confirmer le rôle de ces séquences TSR (voire de séquences qui en dérivent) et serait arrivé à mettre en évidence leurs utilisations telles que revendiquées.

REVENDICATIONS

1) Peptide présentant au moins la séquence en acides aminés
 5 suivantes :

-W-S-A₁-C-S-A₂-C-G- (SEQ ID n°1)

dans laquelle A₁ et A₂ sont des séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés à l'exception des peptides ou polypeptides ayant l'une des séquences :

10 -W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)

-W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)

-W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4))

- W-S-P-W-S-E-W-T-S-C-S-T-S-C-G-N-G-I-Q-Q-R-G-R

- W-S-H-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-D-G-V-I-T-R-I-R

15 - W-G-P-W-S-P-W-D-I-C-S-V-T-C-G-G-V-Q-K-R-S-R

- W-S-Q-C-S-V-Y-C-G

- T-E-W-S-A-C-S-K-S-C-G-M-G-F-S-T-R-V-T-N-R-N

- et T-E-W-S-A-C-S-K-T-C-G-M-G-I-S-T-R-V-T-N-D-N.

20 2) Peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que A₁ est Pro ou -X₁-W-X₂-X₃- (SEQ ID n°5), X₁, X₂ et X₃ étant choisis

indépendamment l'un des autres parmi G, S et C.

25 3) Peptide selon la revendication 2, caractérisé en ce que A₁ est X₁-

W-S-X₃ (SEQ ID n°6).

4) Peptide selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que A₂ est choisi parmi : R-S, V-S et V-T.

5) Peptide selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il comporte au moins la séquence -W-S-X₁-W-S-X₂-C-S-A₂-C-G-. (SEQ ID n°7)

5 6) Peptide selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il s'agit de : -W-S-G-W-S-S-C-S-R-S-C-G- (SEQ ID n°8)

7) Peptide selon l'une des revendications 1 à 5 de formule :

Y-W-S-A₁-C-S-A₂-C-G-Z (SEQ ID n°9)
10 dans laquelle Y et Z constituent les extrémités N et C-terminales du peptide, ou comportent des chaînes d'acides aminés ayant moins de 6 acides aminés, ou comportent des chaînes de composés qui ne sont pas des acides aminés.

15 8) Composition pharmaceutique comportant au moins un peptide selon l'une des revendications 1 à 7 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

20 9) Utilisation d'un peptide sélectionné parmi les peptides selon l'une des revendications 1 à 7 et les peptides ayant la séquence :

-W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)

-W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)

-W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4))

- W-S-P-W-S-E-W-T-S-C-S-T-S-C-G-N-G-I-Q-Q-R-G-R

25 - W-S-H-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-D-G-V-I-T-R-I-R

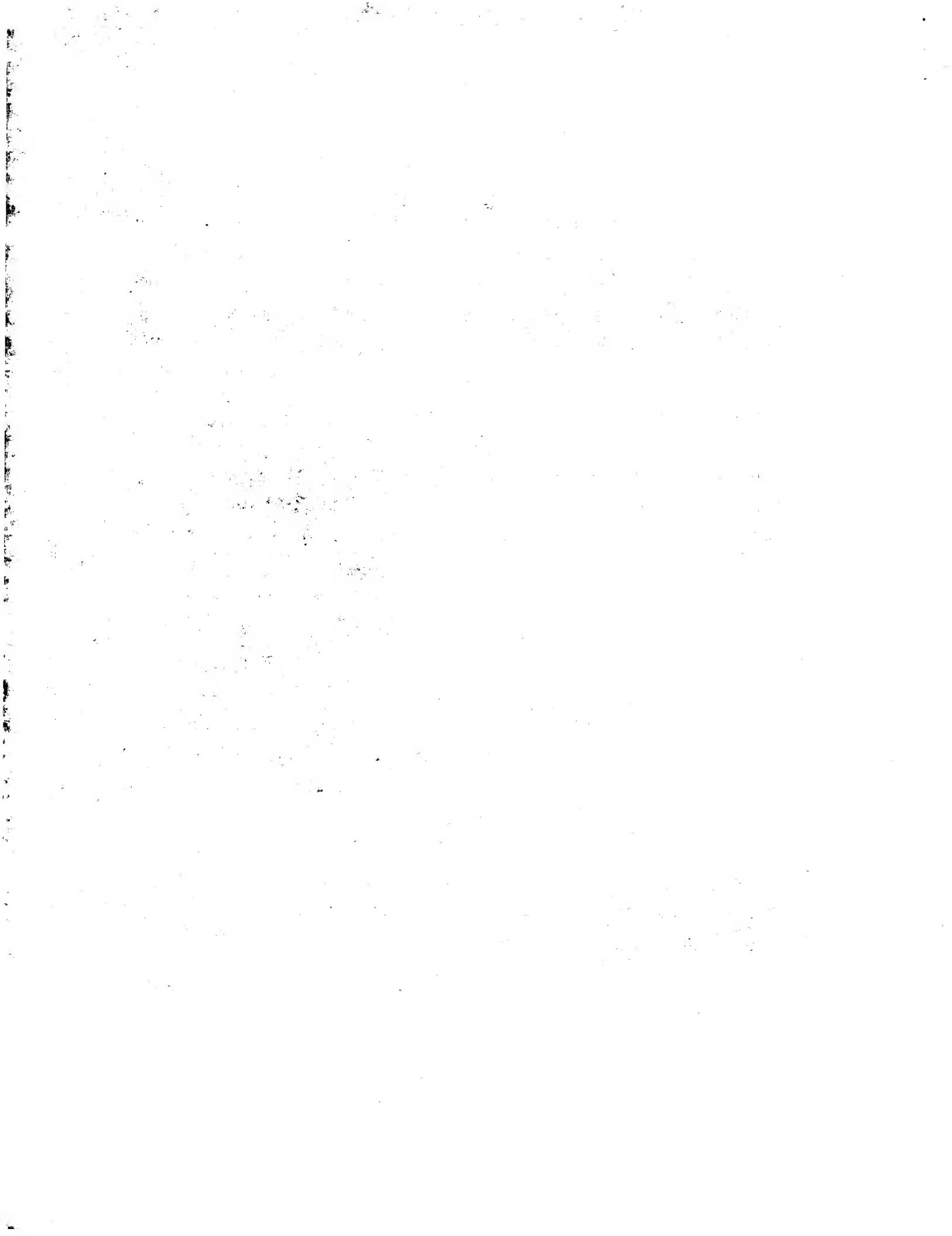
- W-G-P-W-S-P-W-D-I-C-S-V-T-C-G-G-G-V-Q-K-R-S-R

- W-S-Q-C-S-V-Y-C-G

- T-E-W-S-A-C-S-K-S-C-G-M-G-F-S-T-R-V-T-N-R-N

- ou T-E-W-S-A-C-S-K-T-C-G-M-G-I-S-T-R-V-T-N-D-N,

30 pour la fabrication d'un médicament destiné à la régénération des cellules du système nerveux.



10) Utilisation d'un peptide sélectionné parmi les peptides selon l'une des revendications 1 à 7 et les peptides ayant la séquence :

- 5 -W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)
- W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)
- W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4))
- W-S-P-W-S-E-W-T-S-C-S-T-S-C-G-N-G-I-Q-Q-R-G-R
- W-S-H-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-D-G-V-I-T-R-I-R
- 10 - W-G-P-W-S-P-W-D-I-C-S-V-T-C-G-G-G-V-Q-K-R-S-R
- W-S-Q-C-S-V-Y-C-G
- T-E-W-S-A-C-S-K-S-C-G-M-G-F-S-T-R-V-T-N-R-N
- ou T-E-W-S-A-C-S-K-T-C-G-M-G-I-S-T-R-V-T-N-D-N,
- pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des
- 15 maladies neurodégénératives.

11) Utilisation d'un peptide sélectionné parmi les peptides selon l'une des revendications 1 à 7 et les peptides ayant la séquence :

- W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)
- 20 -W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)
- W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4))
- W-S-P-W-S-E-W-T-S-C-S-T-S-C-G-N-G-I-Q-Q-R-G-R
- W-S-H-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-D-G-V-I-T-R-I-R
- W-G-P-W-S-P-W-D-I-C-S-V-T-C-G-G-G-V-Q-K-R-S-R
- 25 - W-S-Q-C-S-V-Y-C-G
- T-E-W-S-A-C-S-K-S-C-G-M-G-F-S-T-R-V-T-N-R-N
- ou T-E-W-S-A-C-S-K-T-C-G-M-G-I-S-T-R-V-T-N-D-N,
- pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement de
- pathologies et traumatismes nécessitant une régénération des cellules
- 30 du système nerveux et plus particulièrement de leur prolongements synaptiques.

12) Utilisation d'un peptide sélectionné parmi les peptides selon l'une des revendications 1 à 7 et les peptides ayant la séquence :

- 5 -W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)
- W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)
- W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4))
- W-S-P-W-S-E-W-T-S-C-S-T-S-C-G-N-G-I-Q-Q-R-G-R
- W-S-H-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-D-G-V-I-T-R-I-R
- 10 - W-G-P-W-S-P-W-D-I-C-S-V-T-C-G-G-V-Q-K-R-S-R
- W-S-Q-C-S-V-Y-C-G
- T-E-W-S-A-C-S-K-S-C-G-M-G-F-S-T-R-V-T-N-R-N
- ou T-E-W-S-A-C-S-K-T-C-G-M-G-I-S-T-R-V-T-N-D-N,
- pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des
- 15 neuroblastomes.

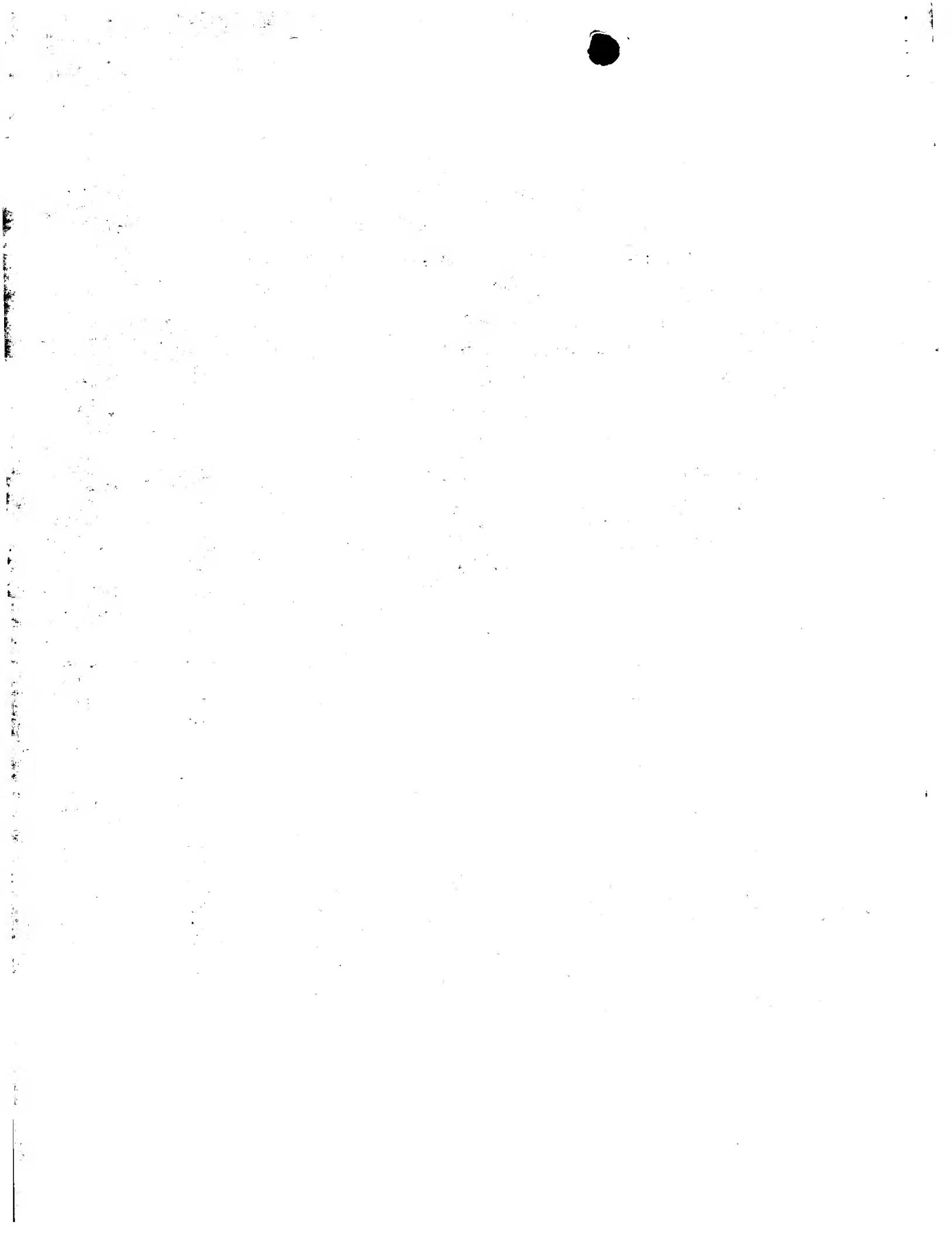
13) Additif pour les cultures cellulaires de cellules nerveuses, caractérisé en ce qu'il comporte un peptide sélectionné parmi les peptides selon l'une des revendications 1 à 7 et les peptides ayant la séquence :

- 20 -W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)
- W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)
- W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4))
- W-S-P-W-S-E-W-T-S-C-S-T-S-C-G-N-G-I-Q-Q-R-G-R
- W-S-H-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-D-G-V-I-T-R-I-R
- 25 - W-G-P-W-S-P-W-D-I-C-S-V-T-C-G-G-V-Q-K-R-S-R
- W-S-Q-C-S-V-Y-C-G
- T-E-W-S-A-C-S-K-S-C-G-M-G-F-S-T-R-V-T-N-R-N
- ou T-E-W-S-A-C-S-K-T-C-G-M-G-I-S-T-R-V-T-N-D-N.

14) Vecteur d'expression cellulaire caractérisé en ce qu'il comporte une séquence d'acide nucléique exprimant un peptide sélectionné parmi les peptides selon l'une des revendications 1 à 7 et les peptides ayant la séquence :

- 5 -W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)
- W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)
- W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4)
- W-S-P-W-S-E-W-T-S-C-S-T-S-C-G-N-G-I-Q-Q-R-G-R
- W-S-H-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-D-G-V-I-T-R-I-R
- 10 - W-G-P-W-S-P-W-D-I-C-S-V-T-C-G-G-G-V-Q-K-R-S-R
- W-S-Q-C-S-V-Y-C-G
- T-E-W-S-A-C-S-K-S-C-G-M-G-F-S-T-R-V-T-N-R-N
- ou T-E-W-S-A-C-S-K-T-C-G-M-G-I-S-T-R-V-T-N-D-N.

15 15) Vecteur d'expression cellulaire selon la revendication 14 caractérisé en ce qu'il comprend une séquence codant pour le peptide de séquence SEQ ID n°8.



09/462909

514 Rec'd PCT/PTO 18 JAN 2000

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

PCT International Application No. : PCT/FR98/01556

VERIFICATION OF A TRANSLATION

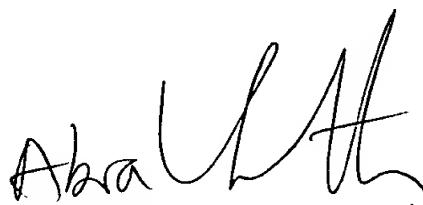
I, the below named translator, hereby declare that:

My name and post office address are as stated below;

That I am knowledgeable in the French language in which the below identified international application was filed, and that, to the best of my knowledge and belief, the English translation of the international application No. PCT/FR98/01556 is a true and complete translation of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application issued thereon.

Date: 11 January 2000



ABRAHAM SMITH

Full name of the translator :

For and on behalf of RWS Group plc

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,

Gerrards Cross, Buckinghamshire,

England.

0005 MAR 8 / 079496 REC'D BY STAFF

REPLACED BY
ART 34 AMDT
WO 99/03890

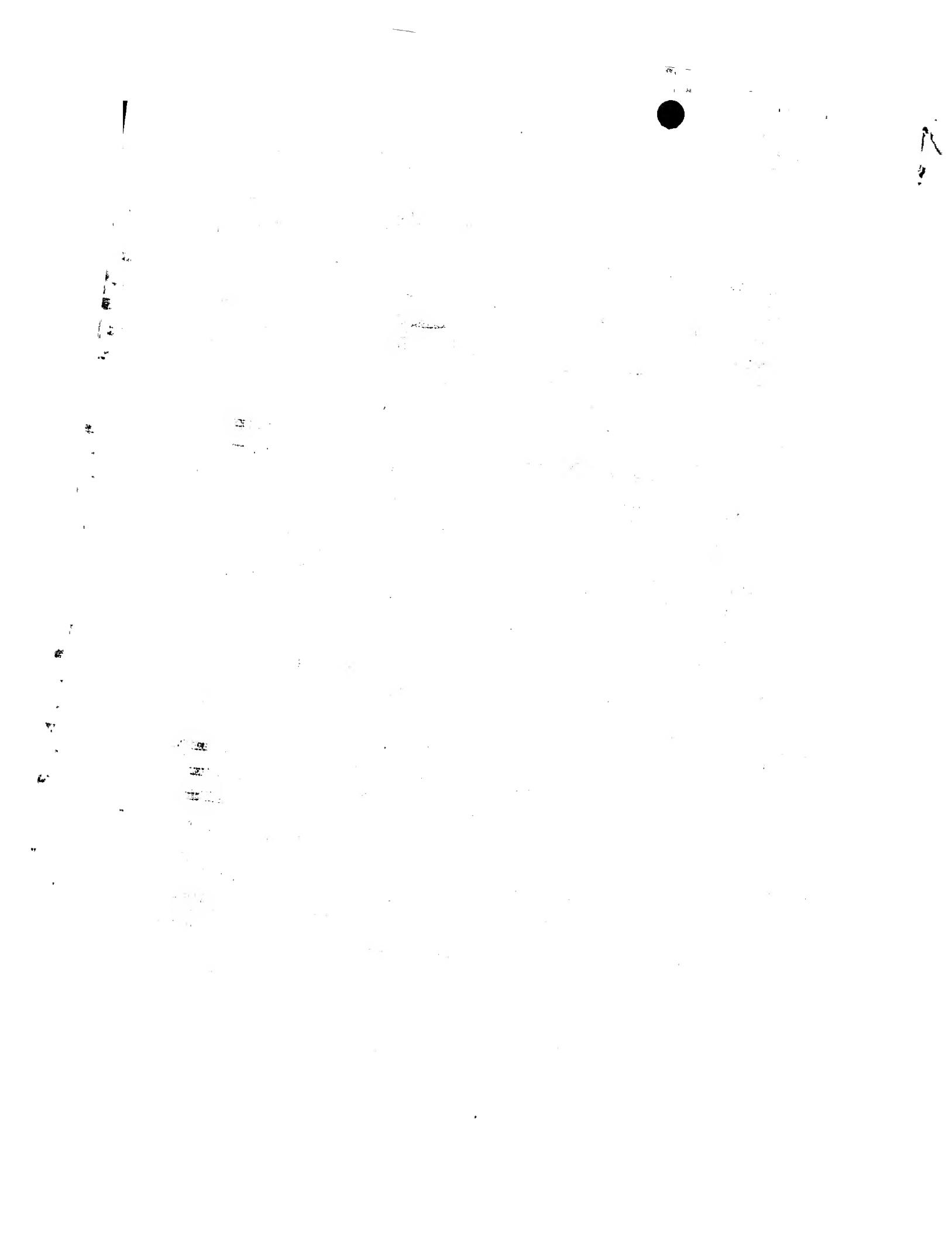
PCT/FR98/01556

- 13 -

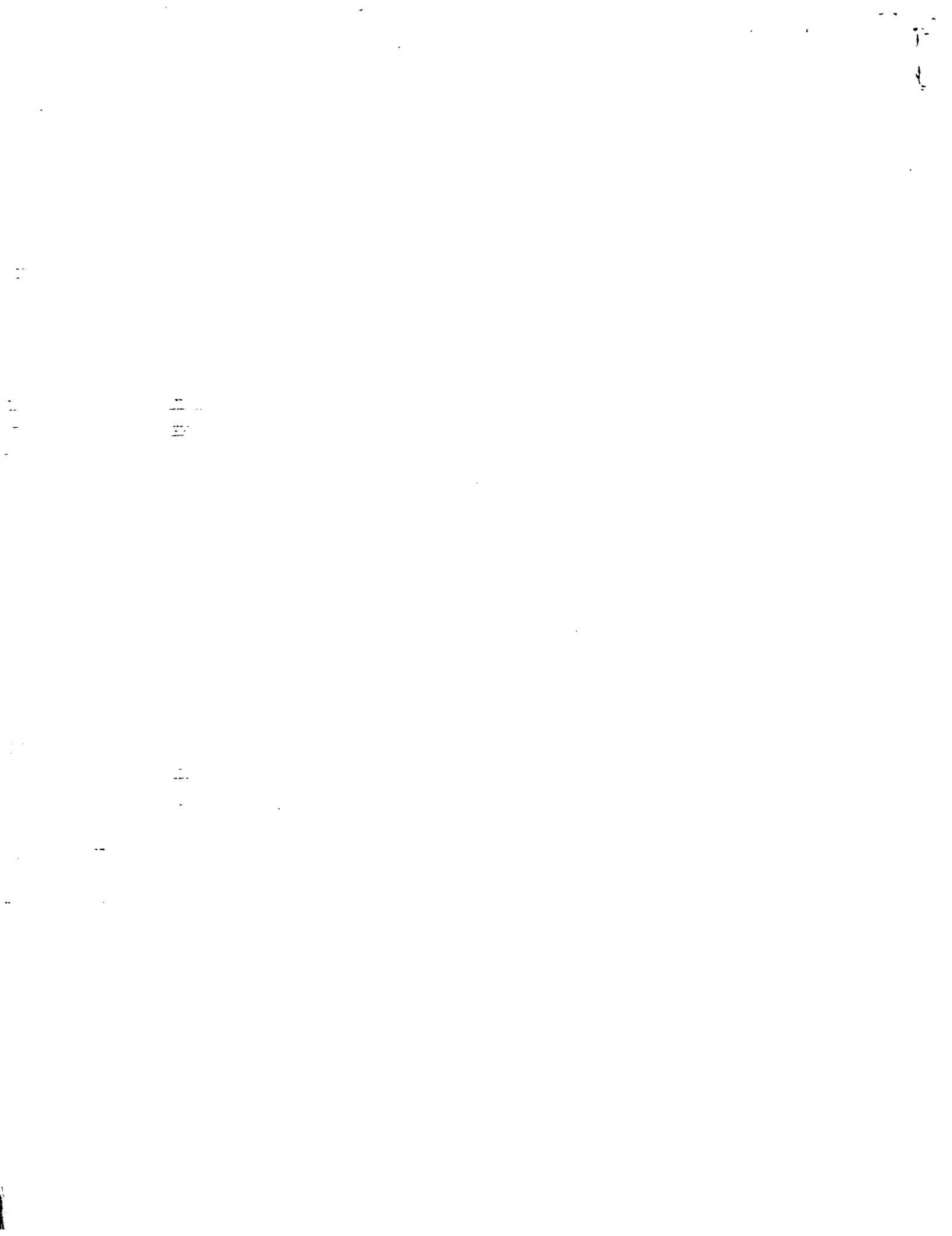
CLAIMS

1. Peptide or polypeptide having at least the following amino acid sequence:
 $-W-S-A_1-C-S-A_2-C-G-$ (SEQ ID No. 1)
in which A_1 and A_2 are amino acid sequences comprising 1 to 5 amino acids, with the exception of the peptides or polypeptides having one of the sequences:
 $-W-S-P-C-S-V-T-C-G-$ (SEQ ID No. 2)
 $-W-S-S-C-S-V-T-C-G-$ (SEQ ID No. 3)
 $-W-S-Q-C-S-V-T-C-G-$ (SEQ ID No. 4)
2. Peptide or polypeptide according to Claim 1, characterized in that A_1 is Pro or $-X_1-W-X_2-X_3-$ (SEQ ID No. 5), X_1 , X_2 and X_3 being chosen, independently of each other, from G, S and C.
3. Peptide or polypeptide according to Claim 2, characterized in that A_1 is $X_1-W-S-X_3$ (SEQ ID No. 6).
4. Peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 3, characterized in that A_2 is chosen from: R-S, V-S and V-T.
5. Peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 4, characterized in that it comprises at least the sequence $-W-S-X_1-W-S-X_2-C-S-A_2-C-G-$ (SEQ ID No. 7).
6. Peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 5, characterized in that it is:
 $-W-S-G-W-S-S-C-S-R-S-C-G-$ (SEQ ID No. 8).
7. Peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 5 of formula:
 $Y-W-S-A_1-C-S-A_2-C-G-Z$ (SEQ ID No. 9)
in which Y and Z constitute the N- and C-terminal ends of the peptide, or comprise amino acid chains having less than 6 amino acids, or comprise chains of compounds which are not amino acids.
8. Pharmaceutical composition comprising at least one peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 7 and a pharmaceutically acceptable vehicle.

REPLACEMENT SHEET (RULE 26)



9. Use of a peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 7 or of at least one peptide or polypeptide having the sequences SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 3 or SEQ ID No. 4 for the manufacture of a medicine intended for the regeneration of the nervous system cells.
10. Use of a peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 7 or of at least one peptide or polypeptide having the sequences SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 3 or SEQ ID No. 4 for the manufacture of a medicine intended for the treatment of neurodegenerative diseases.
11. Use of a peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 7 or of at least one peptide or polypeptide having the sequences SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 3 or SEQ ID No. 4 for the manufacture of a medicine intended for the treatment of pathological conditions and traumas requiring regeneration of the nervous system cells and more particularly of their synaptic outgrowths.
12. Use of a peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 7 or of at least one peptide or polypeptide having the sequences SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 3 or SEQ ID No. 4 for the manufacture of a medicine intended for the treatment of neuroblastomas.
13. Additive for the cellular cultures of nerve cells, characterized in that it comprises at least one peptide or polypeptide according to one of Claims 1 to 7 or alternatively having the sequences SEQ ID No. 2, SEQ ID No. 3 or SEQ ID No. 4.
14. Cellular expression vector, characterized in that it comprises a nucleic acid sequence expressing a peptide or a polypeptide according to one of Claims 1 to 7.
- 35 15. Cellular expression vector according to Claim 13, characterized in that it comprises in particular the sequence SEQ ID No. 10.



Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

09/462909

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 339229/16886	FOR FURTHER ACTION		See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/FR98/01556	International filing date (day/month/year) 16 July 1998 (16.07.1998)	Priority date (day/month/year) 16 July 1997 (16.07.1997)	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 14/78			
Applicant UNIVERSITE D'AUVERGNE			

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 5 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I Basis of the report
- II Priority
- III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV Lack of unity of invention
- V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI Certain documents cited
- VII Certain defects in the international application
- VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 15 February 1999 (15.02.1999)	Date of completion of this report 25 October 1999 (25.10.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR98/01556

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

 the international application as originally filed. the description, pages 1-13, as originally filed,

pages _____, filed with the demand,

pages _____, filed with the letter of _____.

pages _____, filed with the letter of _____.

 the claims, Nos. _____, as originally filed,

Nos. _____, as amended under Article 19,

Nos. _____, filed with the demand,

Nos. 1-15, filed with the letter of 23 September 1999 (23.09.1999),

Nos. _____, filed with the letter of _____.

 the drawings, sheets/fig _____, as originally filed,

sheets/fig _____, filed with the demand,

sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

 the description, pages _____ the claims, Nos. _____ the drawings, sheets/fig _____

3. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 98/01556

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	9-12	YES
	Claims	1-8, 13-15	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-15	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

D1: EP 0443404

D2: Mor et al., J. Clin. Invest., 98(12), 1996,
pp.2700-05

D3: WO 93/00430

D4: Gobron et al., J. Cell Science, 109, 1996, pp.
1053-61

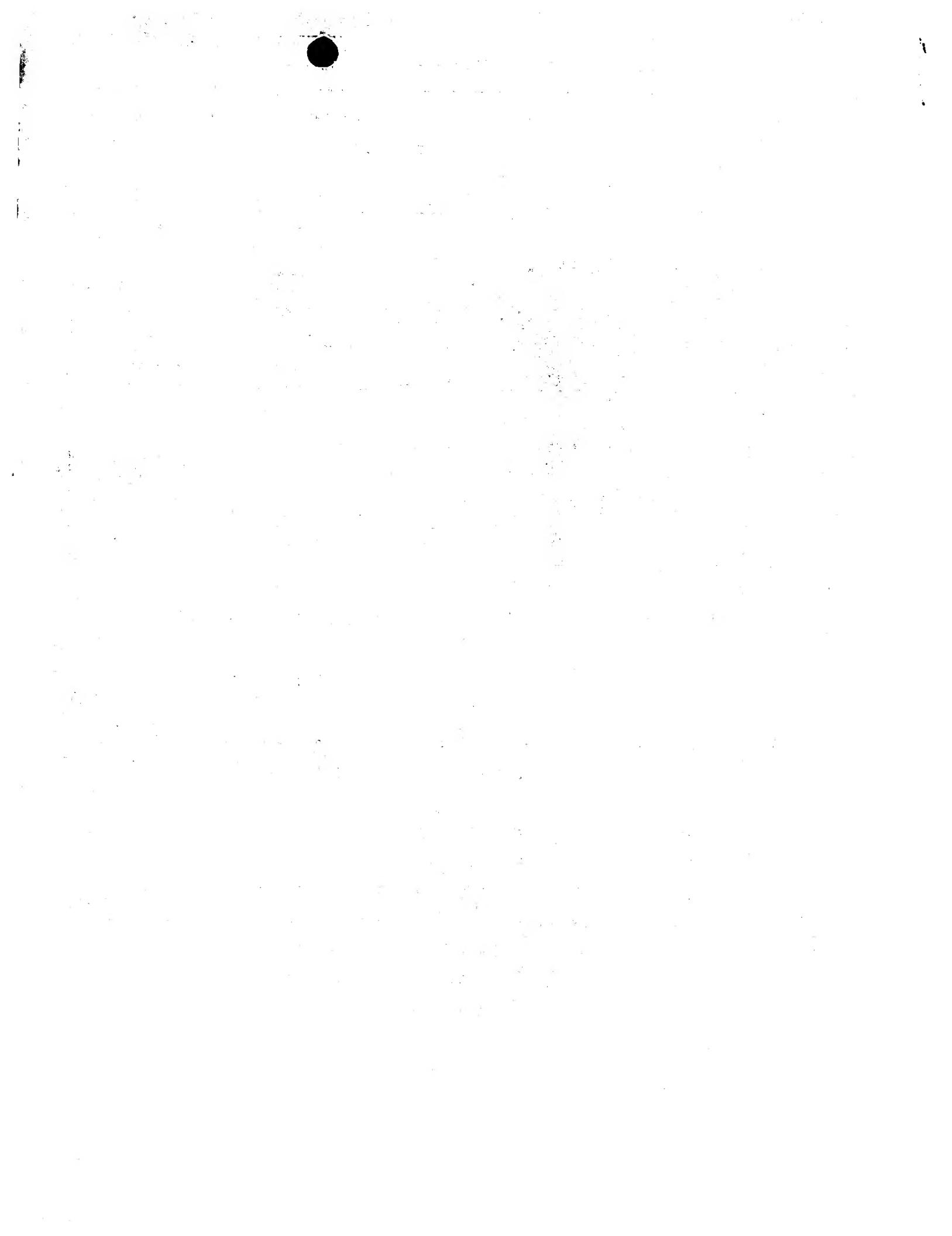
D5: Klar et al., Cell, 69, 1992, pp. 95-110.

I) 1) Peptide p4 (...-W-S-P-W-S-S-C-S-V-T-C-G-...) disclosed in D1 (page 7) falls within the scope of Claims 1, 4 and 7.

The subject matter of Claims 1, 4 and 7 is therefore not novel (PCT Article 33(2)).

The pharmaceutical compositions described on page 3, lines 8-12 of D1 take away the novelty of Claim 8. In so far as the term **additive** does not contribute any distinguishing feature in relation to the peptide alone or as part of a pharmaceutical composition, the peptides p17, p4 and p12 of D1 take away the novelty of Claim 13.

2) Peptide 21, mentioned in document D2 (page 2701,



column 1) does not correspond to the disclaimer of line 13 of Claim 1. This disclaimer is not therefore acceptable. Consequently, peptide 21 takes away the novelty of Claims 1, 7, 8 and 13.

- 3) Peptides XXX and XXXI described on page 42 of D3 take away the novelty of Claim 13.
 - 4) The protein SCO-spondin (which is also a peptide; no definition generally accepted in the prior art enables a peptide to be distinguished from a protein) has the amino acid sequence SEQ ID n° 8 (see D4, Fig. 3B, residues n° 762-813). The peptide SCO-spondin therefore also takes away the novelty of Claims 1-7 and 13.
It should also be noted that the peptide F-spondin (D5, Fig. 5) anticipates the subject matter of Claims 1, 2, 4, 7 and 13, taking into account the presence of sequences corresponding to residues n° 500-556 and 613-666 in F-spondin.
 - 5) Expression vectors containing spondin sequences are described in D4 and D5, and take away the novelty of Claims 14 and 15.
- II) F-spondin is described in D5 as having the properties of promoting neural cell adhesion and of increasing neurite extension (see title), including axon growth (see summary). Moreover, D5 indicates that the domains covered by said properties could be TSR motifs (see page 105), i.e. motifs corresponding to the polypeptides claimed in Claims 1-7. It appears therefore that the uses of these polypeptides for medical purposes as claimed in Claims 9-12 are not inventive (PCT Article 33(3)).

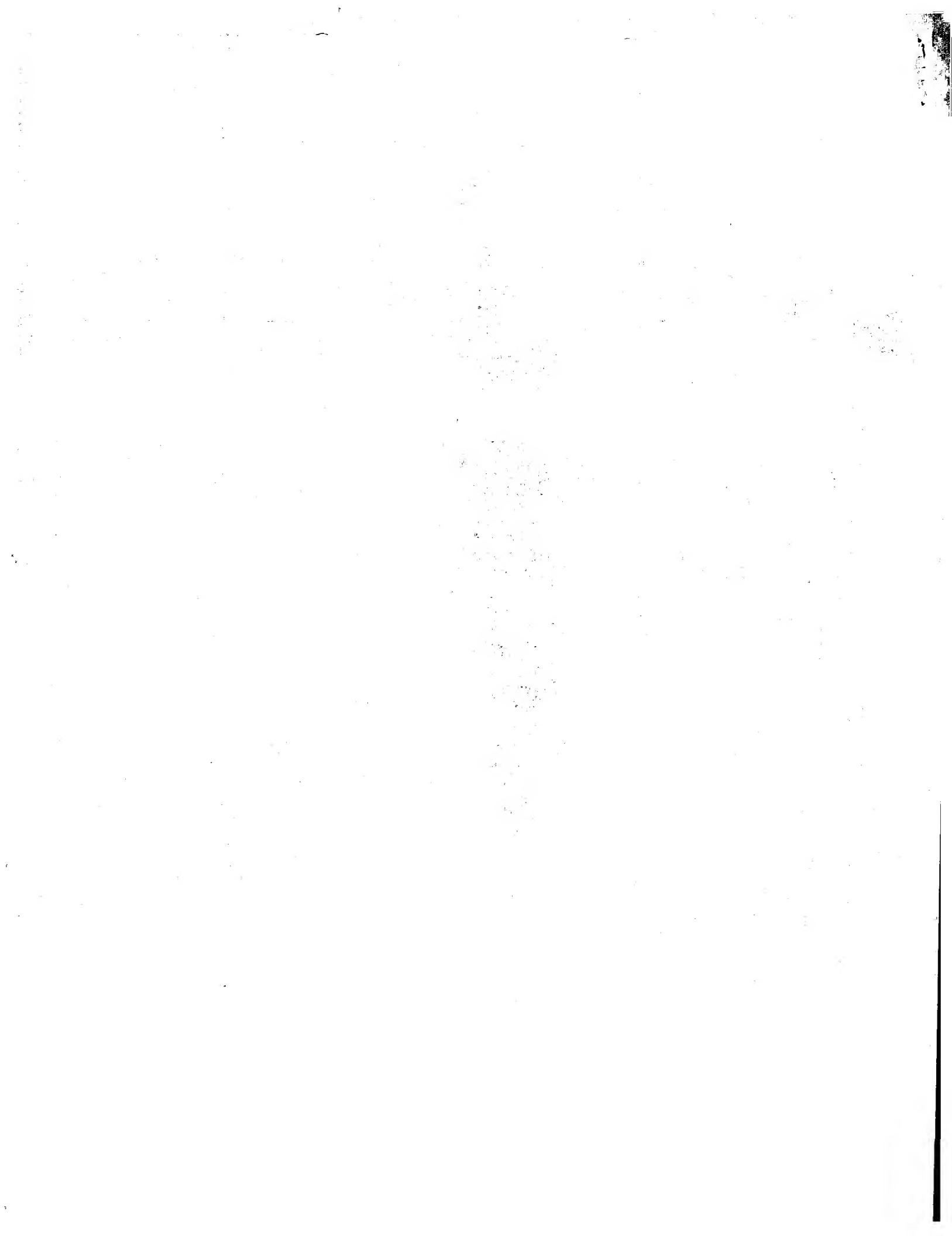


INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/01556

Indeed, a person skilled in the art, seeking to identify polypeptides which are active in the regeneration of the nervous system, and aware of the teaching of D5, would be able, via routine experiments, to confirm the role of said TSR sequences (and perhaps even of the sequences derived therefrom) and to disclose the uses thereof as claimed.



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International patent classification ⁶ : C07K 14/78, C12N 15/63, A61K 38/39	A1	(11) International publication number: WO 99/03890 (43) International publication date: 28 January 1999 (28.01.99)
(21) International application number: PCT/FR98/01556		(81) Designated states: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), Eurasian Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
(22) International filing date: 16 July 1998 (16.07.98)		
(30) Data relating to the priority: 97/09016 16 July 1997 (16.07.97)	FR	
(71) Applicant (for all designated States except US): UNIVERSITE D'AUVERGNE [FR/FR]; 49, boulevard François-Mitterrand, F-63000 Clermont- Ferrand (FR).		
(72) Inventors; and		
(75) Inventors/Applicants (US only): MEINIEL, Annie [FR/FR]; 12, impasse de l'Auzon, F-63800 Cournon (FR). MONNERIE, Hubert [FR/FR]; 2, rue de la Berge, F-42300 Roanne (FR). GOBRON, Stéphane [FR/FR]; 33, rue Philippe Lebon, F-63000 Clermont- Ferrand (FR).		
(74) Representative: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		

As printed

(54) Title: NOVEL PEPTIDES AND POLYPEPTIDES USEFUL FOR REGENERATING THE NERVOUS SYSTEM

(54) Titre: NOUVEAUX PEPTIDES ET POLYPEPTIDES UTILES DANS LA REGENERATION DU SYSTEME NERVEUX

(57) Abstract

The invention concerns in particular novel peptides and polypeptides comprising at least the following sequence in amino acids: -W-S-A1-C-S-A2-C-G- in which A1 and A2 are amino acid sequences comprising 1 to 5 amino acids, useful as medicines in therapeutic treatments involving the regeneration of the nervous system cells, for treating neuroblastomas, and also useful as additives in the culture of nervous cells.

(57) Abrégé

La présente invention concerne notamment de nouveaux peptides et polypeptides présentant au moins la séquence en acides aminés suivante: -W-S-A1-C-S-A2-C-G- dans laquelle A1 et A2 sont des séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés, utiles notamment à titre de médicaments dans les thérapies impliquant la régénération des cellules du système nerveux, dans le traitement des neuroblastomes, et utiles également comme additifs dans les cultures de cellules nerveuses.



ONLY FOR INFORMATION

Codes used to identify the PCT member States on the flyleaves of the brochures in which international applications made under the PCT are published.

AL	Albania	ES	Spain	LS	Lesotho	SI	Slovenia
AM	Armenia	FI	Finland	LT	Lithuania	SK	Slovakia
AT	Austria	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Senegal
AU	Australia	GA	Gabon	LV	Latvia	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaijan	GB	United Kingdom	MC	Monaco	TD	Chad
BA	Bosnia-Herzegovina	GE	Georgia	MD	Republic of Moldova	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tajikistan
BE	Belgium	GN	Guinea	MK	Former Yugoslav Republic of Macedonia	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Fasso	GR	Greece	ML	Mali	TR	Turkey
BG	Bulgaria	HU	Hungary	MN	Mongolia	TT	Trinidad and Tobago
BJ	Benin	IE	Ireland	MR	Mauritania	UA	Ukraine
BR	Brazil	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Iceland	MX	Mexico	US	United States of America
CA	Canada	IT	Italy	NE	Niger	UZ	Uzbekistan
CF	Central African Republic	JP	Japan	NL	Netherlands	VN	Vietnam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norway	YU	Yugoslavia
CH	Switzerland	KG	Kyrgyzstan	NZ	New Zealand	ZW	Zimbabwe
CI	Ivory Coast	KP	Democratic People's Republic of Korea	PL	Poland		
CM	Cameroon	KR	Republic of Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kazakhstan	RO	Romania		
CU	Cuba	LC	Saint Lucia	RU	Russian Federation		
CZ	Czech Republic	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Germany	LK	Sri Lanka	SE	Sweden		
DK	Denmark	LR	Liberia	SG	Singapore		
EE	Estonia						



PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07K 14/78, C12N 15/63, A61K 38/39		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/03890 (43) Date de publication internationale: 28 janvier 1999 (28.01.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/01556 (22) Date de dépôt international: 16 juillet 1998 (16.07.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/09016 16 juillet 1997 (16.07.97) FR		(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).	
(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): UNIVERSITE D'AUVERGNE [FR/FR]; 49, boulevard François-Mitterrand, F-63000 Clermont-Ferrand (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): MEINIEL, Annie [FR/FR]; 12, impasse de l'Auzon, F-63800 Courmon (FR). MONNERIE, Hubert [FR/FR]; 2, rue de la Berge, F-42300 Roanne (FR). GOBRON, Stéphane [FR/FR]; 33, rue Philippe Lebon, F-63000 Clermont-Ferrand (FR). (74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale. Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i>	

(54) Title: NOVEL PEPTIDES AND POLYPEPTIDES USEFUL FOR REGENERATING THE NERVOUS SYSTEM

(54) Titre: NOUVEAUX PEPTIDES ET POLYPEPTIDES UTILES DANS LA REGENERATION DU SYSTEME NERVEUX

(57) Abstract

The invention concerns in particular novel peptides and polypeptides comprising at least the following sequence in amino acids: -W-S-A1-C-S-A2-C-G- in which A1 and A2 are amino acid sequences comprising 1 to 5 amino acids, useful as medicines in therapeutic treatments involving the regeneration of the nervous system cells, for treating neuroblastomas, and also useful as additives in the culture of nervous cells.

(57) Abrégé

La présente invention concerne notamment de nouveaux peptides et polypeptides présentant au moins la séquence en acides aminés suivante: -W-S-A1-C-S-A2-C-G- dans laquelle A1 et A2 sont des séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés, utiles notamment à titre de médicaments dans les thérapies impliquant la régénération des cellules du système nerveux, dans le traitement des neuroblastomes, et utiles également comme additifs dans les cultures de cellules nerveuses.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

NOUVEAUX PEPTIDES ET POLYPEPTIDES UTILES DANS LA REGENERATION DU SYSTEME NERVEUX.

5 La présente invention concerne notamment de nouveaux peptides et polypeptides utiles notamment à titre de médicaments dans les thérapies impliquant la régénération des cellules du système nerveux, dans le traitement des neuroblastomes, et utiles également comme additifs dans les cultures de cellules nerveuses.

10 De très nombreuses protéines comportants des motifs répétés que l'on appelle motifs de type 1 des thrombospondines (TSRs) ont été identifiées ces dernières années. On peut dire que ces protéines ont des activités très variées selon le système biologique dans lequel elles interviennent. Citons comme exemples les mieux étudiés et donc les plus connus, les protéines CS (de circumsporozoïte) qui permettent la fixation aux cellules hépatiques de l'agent de la propagation de la malaria, le sporozoïte de plasmodium falciparum (WO 94/06646) et la thrombospondine sécrétée par les plaquettes sanguines qui intervient dans les phénomènes de thrombose et d'angiogénèse (EP 443 404).

15 En fait, ce motif de type 1 des thrombospondines (TSR) comporte, dans toutes les protéines étudiées jusqu'alors et évoquées précédemment, environ 60 acides aminés (AA) dont un certain nombre comme des cystéines (C), des tryptophanes (W), des séries (S), des glycines (G), des arginines (R) et des prolines (P) sont très conservés 20 (voir ci-dessous l'alignement de ces AA conservés dans quelques protéines).

25 Certains peptides synthétiques, déduits de ces motifs TSRs, ont des propriétés biologiques intéressantes. Ainsi, les motifs CSVTCG permettent l'adhésion des sporozoïtes du plasmodium aux cellules hépatiques, les motifs CSVTCG et WXXW permettent l'attachement 30 cellulaire dans d'autres modèles biologiques, BBXB (B étant un acide

aminé basique) lie l'héparine et enfin WSXWS lie certains facteurs de croissance.

La F-spondine a été décrite et sa séquence a été alignée avec celle de la thrombospondine dans Klar et al, (1992), Cell, 69, 95-110.

5 Les caractéristiques générales de la SCO-spondine sont décrites notamment dans l'article de Monnerie et al. (soumis) et l'article de Gobron et al, (1996), Journal of Cell Science, 109, 1053-1061, 1996. En particulier, l'alignement de la séquence de la SCO-spondine a mis en évidence des homologies avec des protéines telles que la thrombospondine 1 et 2 (Voir séquence, alignement page 1057 de Gobron et al, (1996), J. of Cell Science 109, 1053-1061, incorporée dans la description par référence.).

10

15 L'originalité de la présente invention porte sur l'identification et la sélection d'un nouveau peptide actif dans la régénération du système nerveux, dont la séquence dérive de l'un des TSRs de la SCO-spondine.

Plus particulièrement, la présente invention concerne un peptide ou polypeptide ayant la formule :

-W-S-A₁-C-S-A₂-C-G- (SEQ ID n°1)

20

dans laquelle A₁ et A₂ sont des séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés, à l'exception des peptides ou polypeptides ayant l'une des séquences suivantes
(SEQ ID n°2)

-W-S-P-C-S-V-T-C-G-

25

-W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)

-W-S-Q-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°4)

Il convient de rappeler que dans l'ensemble de la description, on entend désigner par « acide aminé » aussi bien les acides aminés naturels que les acides aminés non naturels. Par « acide aminé naturel » on entend désigner les acides aminés sous forme L que l'on

30

peut trouver dans les protéines naturelles, c'est-à-dire alanine, arginine, asparagine, acide aspartique, cystéine, glutamine, acide glutamique, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, proline, sérine, thréonine, tryptophane, tyrosine et valine. Mais, la présente invention concerne également les acides aminés non naturels, c'est-à-dire les acides aminés précédents sous leur forme D, ainsi que les formes homo de certains acides aminés comme l'arginine, la lysine, la phénylalanine et la sérine ou les formes nor de la leucine ou de la valine.

Il est également possible d'envisager l'utilisation d'autres acides aminés comme, par exemple :

Abu : acide alpha-aminobutyrique

Agm : agmatine

Aib : acide alpha-aminoisobutyrique

F-trp : N-formyle-trp

la sarcosine

la statine

l'ornithine

la désaminotyrosine.

La désaminotyrosine est incorporée à l'extrémité N-terminale alors que l'agmatine et la statine sont incorporées à l'extrémité C-terminale de ces peptides.

De façon préférée, les peptides selon la présente invention A₁ est la proline ou X₁-W-X₂-X₃ (SEQ ID n°5), où X₁, X₂, X₃ sont choisis indépendamment l'un des l'autres parmi G, S et C, c'est-à-dire de petits aminoacides.

De façon encore préférée, A₁ est X₁-W-S-X₃ (SEQ ID n°6) et A₂ est choisi parmi RS, VS et VT.

Les raisons de ces choix apparaîtront à la lecture de certains exemples.

De préférence, le polypeptide selon la présente invention a la structure suivante :

-W-S-X₁-W-S-X₂-C-S-A₂-C-G- (SEQ ID n°7)

Le peptide préféré a la structure suivante :

5 -W-S-G-W-S-S-C-S-R-S-C-G- (SEQ ID n°8)

De façon préférée, les peptides et polypeptides selon la présente invention auront la structure suivante :

Y-W-S-A₁-C-S-A₂-C-G-Z (SEQ ID n°9)

dans laquelle Y et Z constituent les extrémités N et C-terminales du peptide, ou comportent des chaînes d'acides aminés ayant moins de 6 acides aminés, ou comportent des chaînes de composés qui ne sont pas des acides aminés.

Ceci correspond au peptide en lui-même ou à un peptide dans lequel les extrémités Z et Y améliorent l'activité pharmacologique ou 10 assurent une meilleure pénétration ou biodisponibilité du principe actif, ainsi il est possible de prévoir dans les extrémités Y et Z l'utilisation de composants hydrophiles permettant éventuellement de passer certaines barrières biologiques, ou bien, au contraire, de prévoir des séquences plus hydrophiles qui permettront une meilleure 15 solubilisation des produits en cause.

Enfin, la modification des extrémités peut faciliter l'incorporation de ces produits dans des formes galéniques particulières comme, par exemple, des liposomes ou des microparticules.

La présente invention concerne également des vecteurs 25 d'expression d'ADN caractérisés en ce qu'ils sont capables d'exprimer les peptides ou polypeptides précédents.

Les séquences d'ADN codant pour les peptides ou les polypeptides précédents peuvent être aisément déterminées à partir des séquences en amino-acides ou en s'appuyant, par exemple, sur les séquences 30 naturelles telles qu'elles seront décrites dans la présente demande.

Les vecteurs d'administration pourront être constitués soit par des vecteurs d'ADN nus, soit par des vecteurs plasmidiques, soit encore par des vecteurs viraux ou bien des vecteurs synthétiques.

Il s'agit là de technologies connues qui ne seront pas décrites dans le détail.

L'utilisation de ces vecteurs d'expression permet d'exprimer *in situ* les peptides ou polypeptides en cause et, dans certains cas, est susceptible d'améliorer leur activité.

On choisira, bien entendu, des constructions qui présentent si possible une spécificité pour les cellules nerveuses, dans la mesure où il s'agit des cibles préférées pour les polypeptides selon la présente invention.

Les peptides et polypeptides selon la présente invention peuvent être préparés par tout procédé approprié, notamment ils peuvent être obtenus par synthèse chimique mais également il est possible de les obtenir par voie biologique en utilisant notamment les vecteurs mentionnés précédemment dans les cultures cellulaires appropriées.

Il convient d'ailleurs de remarquer à ce propos que les polypeptides et peptides selon la présente invention peuvent se présenter sous forme déglycosylée ou bien glycosylée si cela est nécessaire. Il convient également de remarquer que dans certains cas et suivant la méthode de préparation il pourra être nécessaire de renaturer certaines structures tertiaires du peptide.

Enfin, les polypeptides selon la présente invention sont plus particulièrement utilisables pour la fabrication d'un médicament et ceci dans le but d'être administrés *in vivo*, notamment dans toutes les pathologies et traumatismes nécessitant une régénération des cellules du système nerveux, et plus particulièrement de leurs prolongements et synapses.

Il peut s'agir de pathologies ou de traumatismes dans lesquels on observe une neurodégénérescence, mais il peut également s'agir de pathologies ou de traumatismes dans lesquels la régénération du système nerveux central, notamment des axones, ou des nerfs périphériques est nécessaire.

Parmi les pathologies neurodégénératives dans lesquelles les composés selon la présente invention peuvent apporter un support, il faut citer notamment la maladie d'Alzheimer, la sclérose en plaques, la maladie de Parkinson et les différents types de myopathies.

10 Pour ce qui concerne la régénération des prolongements neuronaux, notamment des axones, il peut s'agir en particulier de problèmes de type accidentel ou traumatique (section de moelle épinière ou de nerfs périphériques).

15 De même, les composés selon la présente invention peuvent être utilisés comme additifs dans certaines cultures cellulaires avec les mêmes effets que ceux mentionnés précédemment sur la croissance des cellules.

20 Plus particulièrement, les composés selon la présente invention augmentent la pousse neuritique (incluant les axones) dans les neurones du cortex cérébral. Sur les neurones de la moelle épinière on note une inhibition de l'agrégation et une défasciculation des neurites, on note aussi une augmentation des contacts synaptiques.

25 La « pousse neuritique » est définie comme un allongement, c'est-à-dire une croissance des prolongements des neurones, que ce soit le prolongement dendritique ou axonal.

L'« agrégation » est définie comme un regroupement des cellules formant un amas.

30 La « défasciculation » est définie comme le résultat d'une diminution de l'adhésivité entre neurites, conduisant à un réseau lâche de prolongements neuronaux.

Le « contact synaptique » est défini comme la capacité pour une cellule neuronale de communiquer avec une autre cellule, celle-ci pouvant être également neuronale.

Dans un autre aspect de la présente invention, lesdits peptides ou polypeptides peuvent être utiles pour induire la régression de la tumorogénérité lors de neuroblastome.

La nomenclature utilisée pour décrire la séquence du présent peptide est la nomenclature internationale utilisant le code à trois lettres ou le code à une lettre et où l'extrémité amino-terminale est présentée à gauche et l'extrémité carboxy-terminale est présentée à droite.

Les compositions selon la présente invention peuvent se présenter sous une forme quelconque habituelle pour l'administration pharmaceutique, c'est-à-dire par exemple des formes d'administration liquide en gel ou tout autre support permettant, par exemple, la libération contrôlée.

Parmi les compositions utilisables, il faut citer notamment les compositions injectables plus particulièrement destinées aux injections dans les espaces méningés et sous arachnoïdiens.

20

Le peptide le plus actif selon la présente invention a la formule suivante :

Trp-Ser-Gly-Trp-Ser-Ser-Cys-Ser-Arg-Ser-Cys-Gly (SEQ ID n°8)

25

Il est soluble en milieu aqueux basique, présente un poids moléculaire de 1301 Da et présente une composition en amino-acide de :

		N	N(%)	P.M.	P.M.(%)
30	C Cys Cystéine	2	16,7	206	15,8
	G Gly Glycine	2	16,7	114	8,8

R	Arg	Arginine	1	8,3	156	12,0
S	Ser	Serine	5	41,7	435	33,4
W	Trp	Tryptophane	2	16,7	372	28,6

Il a été obtenu par synthèse chimique en phase solide.

Mais, comme cela a été indiqué précédemment, il peut être obtenu par génie génétique en utilisant un système hôte-vecteur comprenant l'ADN codant pour le peptide en tenant compte, par exemple, de la dégénérescence afin de le produire en grande quantité.

10 La séquence d'ADNc codant pour le peptide peut être présentée de la façon suivante (SEQ ID n° 10) :

5' TGG WSN GGN TGG WSN WSN TGY WSN MGN WSN TGY GGN 3'

15	A = Adénosine	W = A ou T
	C = Cytosine	S = G ou C
	G = Guanosine	Y = C ou T
	T = Thymidine	M = A ou C
	N = A, C, G ou T	

Le peptide ainsi obtenu a été identifié par microséquençage, analyse HPLC, spectrométrie de masse et séquençage de l'ADN complémentaire

C'est sur ce peptide (SEQ ID N°8) que l'on a réalisé les expériences
25 décrites ci-après.

Exemple 1 : effet du peptide SEQ ID n° 8 sur la croissance des neurones

Matériel et méthode

5

Cultures cellulaires dissociées d'hémisphères cérébraux d'embryons de poulet âgés de 8 jours

Les cultures neuronales sont obtenues à partir d'embryons de poulet âgés de 8 jours. Les hémisphères cérébraux, après enlèvement des méninges, sont coupés en petits morceaux et dissociés enzymatiquement avec 0,25 % de trypsine dans un tampon salin PBS exempt de calcium et de magnésium pendant 15 minutes à 37°C.

Les cellules sont centrifugées à 200 g pendant 5 minutes en milieu DMEM à 20 % de SVF pour l'inactivation trypsique. Les cellules sont ensuite filtrées sur membrane de nylon (dimension des pores : 48 microns) et collectées dans un milieu chimiquement défini exempt de sérum contenant un mélange 1/1 de DMEM et de milieu Ham's F12 supplémenté avec de la glutamine (4 mM), du glucose (33 mM), de la penicilline G (50 U/ml), du sulfate de streptomycine (50 µg/ml) et un supplément N2 de Bottenstein et Sato (1979) : putrescine (100 µM), sélénite de sodium (30 nM), transferrine humaine (50 µg/ml), progestérone (20 nM), insuline (5 µg /ml) et β-estradiol (1 pM). Tous les suppléments N2 sont achetés chez Sigma.

Les cellules sont étalées avec une densité de $7,5 \times 10^4$ cellules/cm² sur des boîtes en plastique à 24 trous. Pour certaines expérimentations, les boîtes en plastique sont revêtues soit de fibronectine (24 µg/ml) soit de thrombospondine (20 µg/ml). Les cultures sont incubées à 37°C et sous air à 10 % de CO₂. Le milieu n'est pas changé au cours de l'expérience. Ces cultures consistent en près de 95 % de neurones.

Cultures cellulaires de neurones spinales

Les moelles épinières d'embryons de poulet âgés de 6 jours sont disséquées, débarrassées de leur membrane méningée et coupées en petits morceaux dans un tampon phosphate (PBS) exempt de calcium et de magnésium. Après incubation avec 0,25 % de trypsine pendant 10 minutes à 37°C, le tissu est centrifugé à 200 g pendant 4 minutes dans un milieu de croissance contenant 20 % de sérum de veau foetal pour stopper la trypsination. Les cellules sont alors dissociées par 10 trituration répétée en utilisant une pipette Pasteur et resuspendues dans un milieu chimiquement défini exempt de sérum comme précédemment.

Les cellules sont étalées avec une densité de $7,5 \times 10^4$ cellules/cm² sur des boîtes de culture en plastique à 24 puits. Les 15 cultures sont incubées à 37°C et sous air à 10 % de CO₂. Le milieu n'est pas changé durant les expériences et l'on a déjà démontré que ce type de population cellulaire contenait plus de 93 % de neurones.

Les peptides testés sont, outre le peptide selon la présente invention mentionné précédemment (peptide SEQ ID n°8), un second 20 peptide selon l'invention ayant la structure :

W-G-P-C-S-V-S-C-G- (SEQ ID n°11)

puis 3 peptides de comparaison :

D-C-K-D-G-S-D-E- (SEQ ID n°12)

R-K-A-R- (SEQ ID n°13)

25 et une séquence mélangée du peptide SEQ ID n°8 :

S-S-C-R-S-G-C-W-G-S-S-W- (SEQ ID n° 14).

L'ensemble de ces peptides a été obtenu par synthèse.

Résultats

En présence du peptide SEQ ID n°8, les neurones s'agrègent et 30 sont essentiellement connectés par des faisceaux de neurites longs et épais après 5 jours de culture. En plus, ces cellules adhèrent bien au

substrat revêtu du peptide avec aucun détachement des agrégats. Au contraire, les cultures cellulaires contrôles, en l'absence du peptide, se détachent rapidement du substrat plastique à 5 jours de culture. Toutefois, sur le plastique, seules les neurones corticaux forment des agrégats à partir desquels très peu de neurites peuvent être observées, ce qui indique que le substrat est insuffisamment adhésif. Le nombre des agrégats neuronaux augmente de 9,3 % entre la culture contrôle et la culture traitée avec le peptide selon l'invention.

L'analyse morphométrique révèle un accroissement significatif, à la fois dans le nombre des neurites par agrégat et dans la longueur des neurites par agrégat. D'autre part, des puits de plastique revêtu avec de la BSA sont très peu adhésifs pour les cellules neuronales.

Les essais effectués avec d'autres peptides en comparaison avec le peptide SEQ ID n°8 dans le désordre ne donnent aucun résultat significatif.

Le peptide SEQ ID n°11 donne des résultats plus faibles mais, néanmoins, significatifs.

De même, les essais réalisés avec le peptide SEQ ID n°13 qui est une séquence consensus de fixation des glycosamino-glycanes présente dans un grand nombre de protéines se fixant à l'héparine, de même que les peptides correspondant à des récepteurs de LDL type A n'ont donné aucun résultat représentatif.

D'autre part, on a étudié l'effet des peptides selon la présente invention SEQ ID n°8 et n°11 sur des cultures à faible densité. En effet, il a déjà été démontré que la forte agrégation pouvait influencer la croissance neuritique de la même façon que la force d'adhésion des cellules au substrat.

Les essais réalisés à faible densité ont montré qu'en l'absence d'agrégation les deux peptides augmentaient de façon significative le pourcentage des cellules neuronales portant des neurites. Dans les contrôles, seuls 24,4 % des cellules adhérentes présentaient des

neurites à 4 jours de culture tandis que respectivement 2 et 2,5 fois plus apparaissaient en présence des peptides SEQ ID n°8 et n°11.

Les analyses morphométriques ont révélé une augmentation significative dans chacun d'eux à la fois du nombre de neurites par cellule et de la longueur des neurites en présence du peptide SEQ ID n°8 et non pas du peptide SEQ ID n°11. Dans ces conditions, ceci démontre que, même en l'absence d'agrégation neuronale, le peptide SEQ ID n°8 et à moindre degré le peptide SEQ ID n°11 sont capables de promouvoir l'adhésion et la croissance neuritique des cellules neuronales corticales.

On a également étudié l'effet du peptide SEQ ID n°8 invention dans différentes conditions expérimentales :

En présence de différents substrats, on a pu démontrer par exemple que le peptide selon l'invention augmentait de façon significative le nombre des neurites par agrégat dans des plaques à puits revêtues avec la thrombospondine ou la fibronectine et ceci par rapport aux contrôles, de même que la longueur des neurites par agrégat.

L'activité du peptide SEQ ID n°8 sur les cultures de cellules de moelle épinière par rapport à des contrôles montre que les neurones demeurent distribués pendant au moins une semaine *in vitro*. Les neurones montrent des croissances neuritiques proéminentes formant un réseau sans fasciculation des neurites. On note une augmentation du nombre des contacts synaptiques entre les neurites. Au contraire, les cellules neuronales des contrôles forment, en général, de petits agrégats interconnectés par de longs filaments. Les neurites croissant à partir des agrégats forment des faisceaux relativement raides le long desquels des neurones essentiellement simples, bi ou tripolaires peuvent être vus.

Les autres peptides testés dans les mêmes conditions ne montrent pas de différence notable par rapport aux contrôles.

Exemple 2 : Effet du peptide SEQ ID n°8 sur le neuroblastome dérivé de NIB104

5 Matériel et méthode

Les cellules dérivées du neuroblastome NIB104 ont été cultivées dans des boîtes plastique 24 trous préalablement recouvertes par un film de poly-L-lysine, dans des conditions similaires à celles des 10 cultures primaires.

Résultats

En présence du peptide SEQ ID n°8 selon la présente invention, 15 les cellules de neuroblastomes NIB104 sont nettement moins nombreuses que dans les cultures témoins. L'aspect des cellules est considérablement modifié car elles acquièrent un phénotype neuronal caractéristique. L'analyse morphométrique révèle qu'en présence de concentration croissantes de peptide dans le milieu de culture la 20ousse neuritique augmente progressivement. Cette réponse est donc dose-dépendante et significative d'un effet physiologique spécifique.

REVENDICATIONS

1) Peptide ou polypeptide présentant au moins la séquence en acides aminés suivantes :

5

-W-S-A₁-C-S-A₂-C-G- (SEQ ID n°1)

dans laquelle A₁ et A₂ sont des séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés à l'exception des peptides ou polypeptides ayant l'une des séquences :

-W-S-P-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°2)

10

-W-S-S-C-S-V-T-C-G- (SEQ ID n°3)

-W-S-Q-C-S-V-T-C-G- ((SEQ ID n°4))

2) Peptide ou polypeptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que A₁ est Pro ou -X₁-W-X₂-X₃- (SEQ ID n°5), X₁, X₂ et X₃ étant choisis indépendamment l'un des autres parmi G, S et C.

15

3) Peptide ou polypeptide selon la revendication 2, caractérisé en ce que A₁ est X₁-W-S-X₃ (SEQ ID n°6).

20

4) Peptide ou polypeptide selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que A₂ est choisi parmi : R-S, V-S et V-T.

25

5) Peptide ou polypeptide selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il comporte au moins la séquence -W-S-X₁-W-S-X₂-C-S-A₂-C-G-. (SEQ ID n°7)

6) Peptide ou polypeptide selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il s'agit de : -W-S-G-W-S-S-C-S-R-S-C-G- (SEQ ID n°8)

7) Peptide ou polypeptide selon l'une des revendications 1 à 5 de formule :

Y-W-S-A₁-C-S-A₂-C-G-Z (SEQ ID n°9)

dans laquelle Y et Z constituent les extrémités N et C-terminales du peptide, ou comportent des chaînes d'acides aminés ayant moins de 6 acides aminés, ou comportent des chaînes de composés qui ne sont pas des acides aminés.

8) Composition pharmaceutique comportant au moins un peptide ou polypeptide selon l'une des revendications 1 à 7 et un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

9) Utilisation d'un peptide ou polypeptide selon l'une des revendications 1 à 7 ou d'au moins un peptide ou polypeptide présentant les séquences SEQ ID n°2, SEQ ID n°3, ou SEQ ID n°4 pour la fabrication d'un médicament destiné à la régénération des cellules du système nerveux.

10) Utilisation d'un peptide ou polypeptide selon l'une des revendications 1 à 7 ou d'au moins un peptide ou polypeptide présentant les séquences SEQ ID n°2, SEQ ID n°3, ou SEQ ID n°4 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des maladies neurodégénératives.

11) Utilisation d'un peptide ou polypeptide l'une des revendications 1 à 7 ou d'au moins un peptide ou polypeptide présentant les séquences SEQ ID n°2, SEQ ID n°3, ou SEQ ID n°4 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement de pathologies et traumatismes nécessitant une régénération des cellules du système nerveux et plus particulièrement de leur prolongements synaptiques.

- 12) Utilisation d'un peptide ou polypeptide l'une des revendications 1 à 7 ou d'au moins un peptide ou polypeptide présentant les séquences SEQ ID n°2, SEQ ID n°3, ou SEQ ID n°4 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des neuroblastomes.
- 13) Additif pour les cultures cellulaires de cellules nerveuses, caractérisé en ce qu'il comporte au moins un peptide ou polypeptides selon l'une des revendications 1 à 7 ou bien présentant les séquences SEQ ID n°2, SEQ ID n°3, ou SEQ ID n°4.
- 14) Vecteur d'expression cellulaire caractérisé en ce qu'il comporte une séquence d'acide nucléique exprimant un peptide ou un polypeptide selon l'une des revendications 1 à 7.
- 15) Vecteur d'expression cellulaire selon la revendication 13 caractérisé en ce qu'il comporte notamment la séquence SEQ ID n°10.

I

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATIONS GENERALES:

(i) DÉPOSANT:

- (A) NOM: UNIVERSITE D'AUVERGNE
- (B) RUE: 49 BOULEVARD FRANCOIS MITTERAND
- (C) VILLE: CLERMONT-FERRAND
- (E) PAYS: FRANCE
- (F) CODE POSTAL: 63000

(ii) TITRE DE L' INVENTION: NOUVEAUX PEPTIDES ET POLYPEPTIDES UTILES DANS LA REGENERATION DU SYSTEME NERVEUX

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 14

(iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:

- (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
- (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
- (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
- (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

(vi) DONNEES DE LA DEMANDE ANTERIEURE:

- (A) NUMERO DE LA DEMANDE: FR 9709016
- (B) DATE DE DEPOT: 16-JUL-1997

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 8 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:3
- (D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés.

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:6
- (D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés.

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

Trp Ser Xaa Cys Ser Xaa Cys Gly
1 5

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 9 acides aminés
(B) TYPE: acide aminé
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys Gly
1 5

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 9 acides aminés
(B) TYPE: acide aminé
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

Trp Ser Ser Cys Ser Val Thr Cys Gly
1 5

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 9 acides aminés
(B) TYPE: acide aminé
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

Trp Ser Gln Cys Ser Val Thr Cys Gly
1 5

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
(A) LONGUEUR: 8 acides aminés
(B) TYPE: acide aminé
(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:3

(D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie Pro ou X1-W-X2-X3 ou X1, X2, X3 choisis parmi G,S et C.

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:6

(D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés.

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

Trp Ser Xaa Cys Ser Xaa Cys Gly
1 5

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 6:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 8 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:3

(D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie X1-W-S-X3 avec X1 et X3 choisis parmi G,S et C

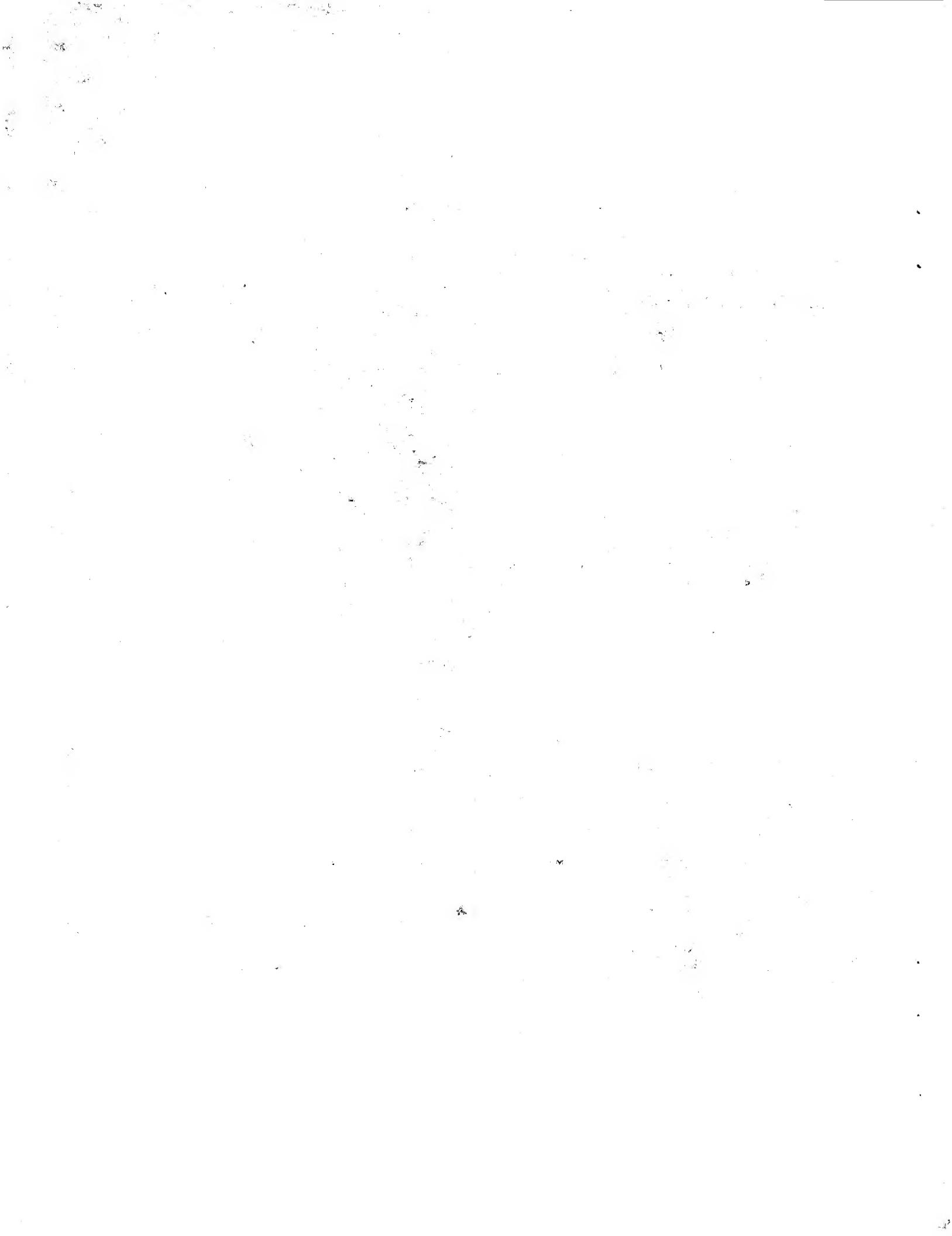
(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:6

(D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés.

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

Trp Ser Xaa Cys Ser Xaa Cys Gly
1 5



(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 7:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 11 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT: 3
- (D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa choisi parmi G, S et C

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT: 6
- (D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa choisi parmi G, S et C

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT: 9
- (D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés.

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

Trp	Ser	Xaa	Trp	Ser	Xaa	Cys	Ser	Xaa	Cys	Gly
1				5	.				10	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 8:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 12 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

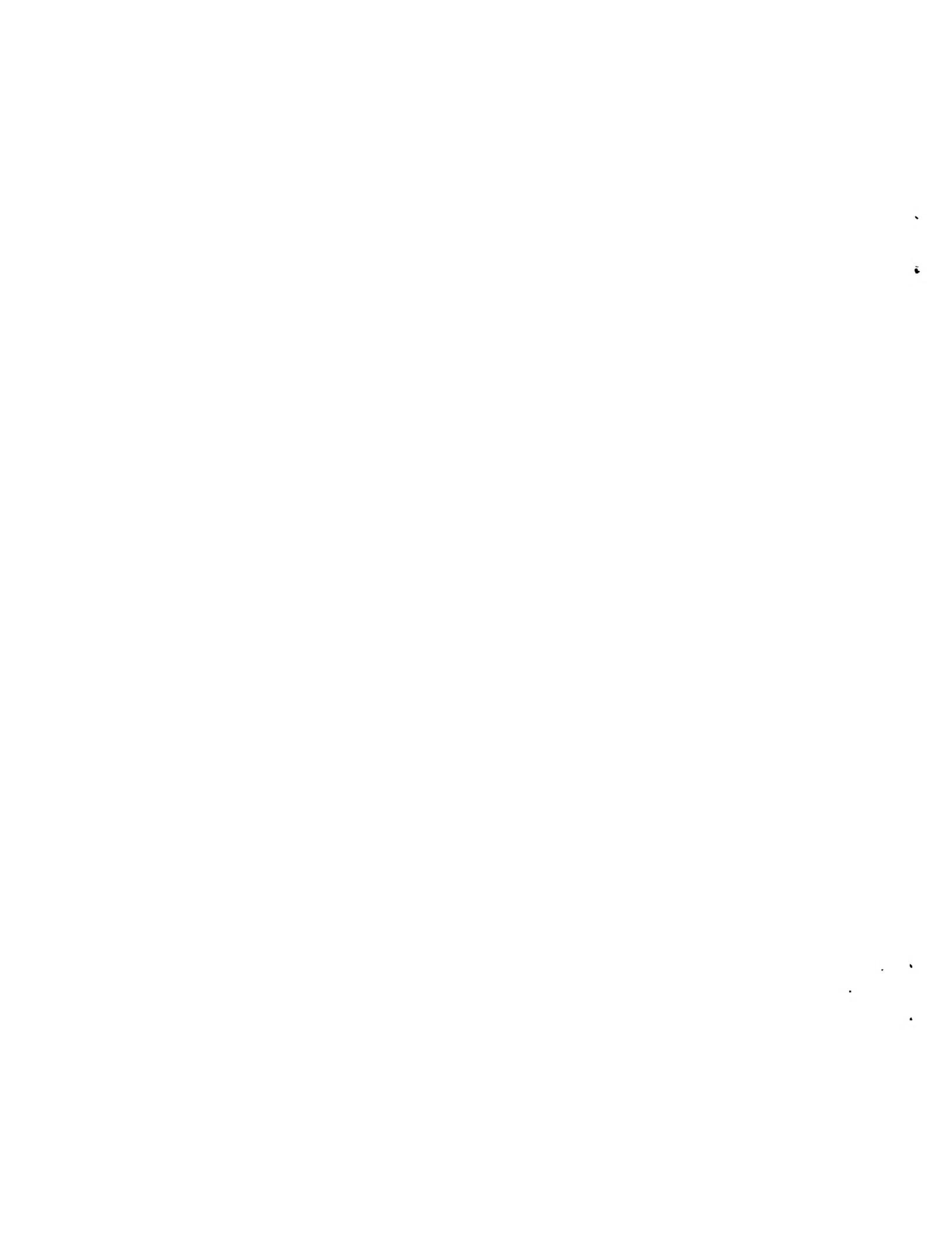
(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

Trp	Ser	Gly	Trp	Ser	Ser	Cys	Ser	Arg	Ser	Cys	Gly
1				5	.				10		

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 10 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire



(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:1

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:4

(D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés.

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:7

(D) AUTRES INFORMATIONS : Xaa signifie séquences d'acides aminés comportant de 1 à 5 acides aminés.

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: caractéristique particulière
- (B) EMPLACEMENT:10

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

Xaa Trp Ser Xaa Cys Ser Xaa Cys Gly Xaa
1 5 10

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 36 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNC

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

TGGWSNGGNT GGWSNWSNTG YWSNMGNWSN TGYGGN

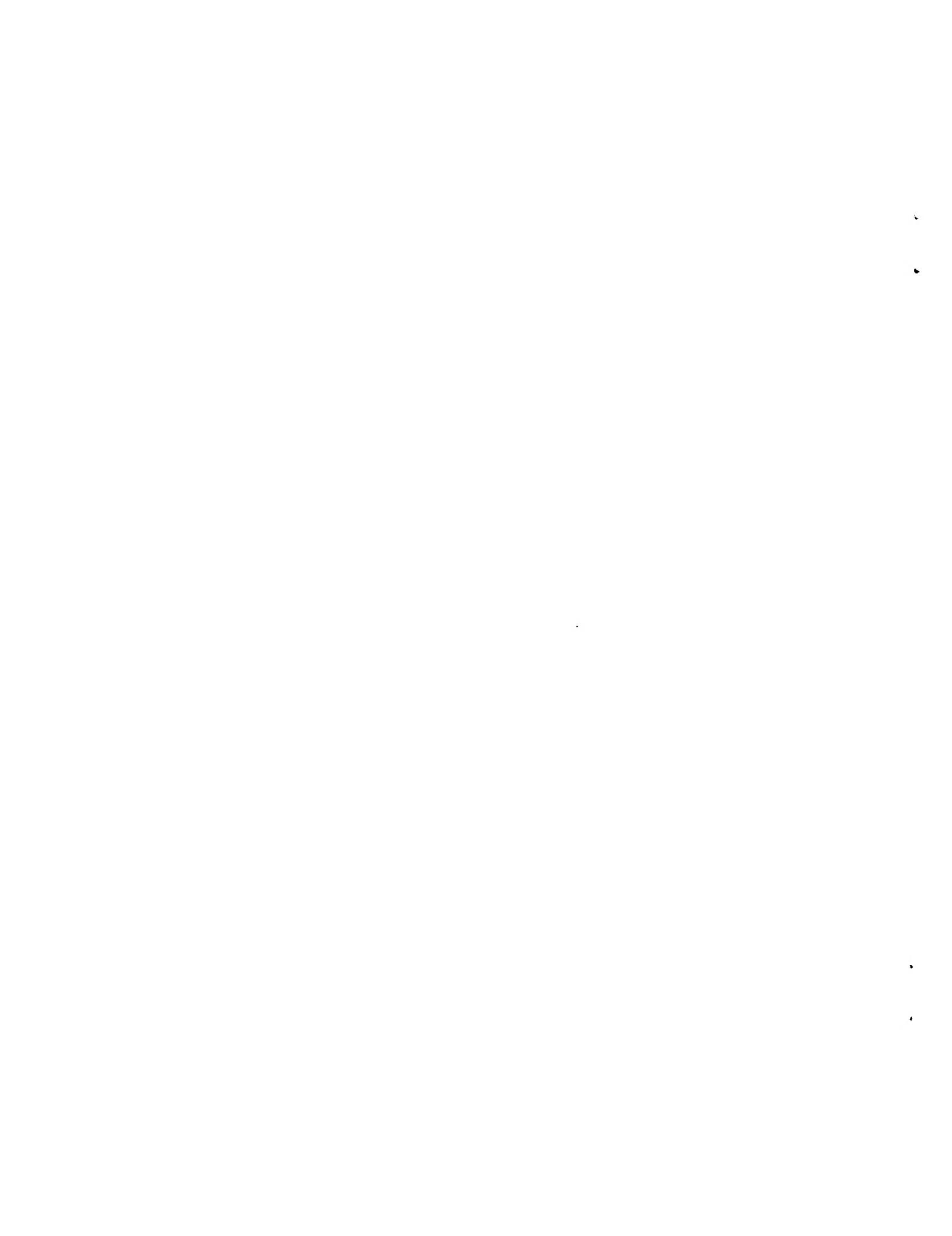
36

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 9 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide



(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

Trp Gly Pro Cys Ser Val Ser Cys Gly
1 5

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 12:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 8 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

Asp Cys Lys Asp Gly Ser Asp Glu
1 5

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 13:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 4 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

Arg Lys Ala Arg
1

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 14:

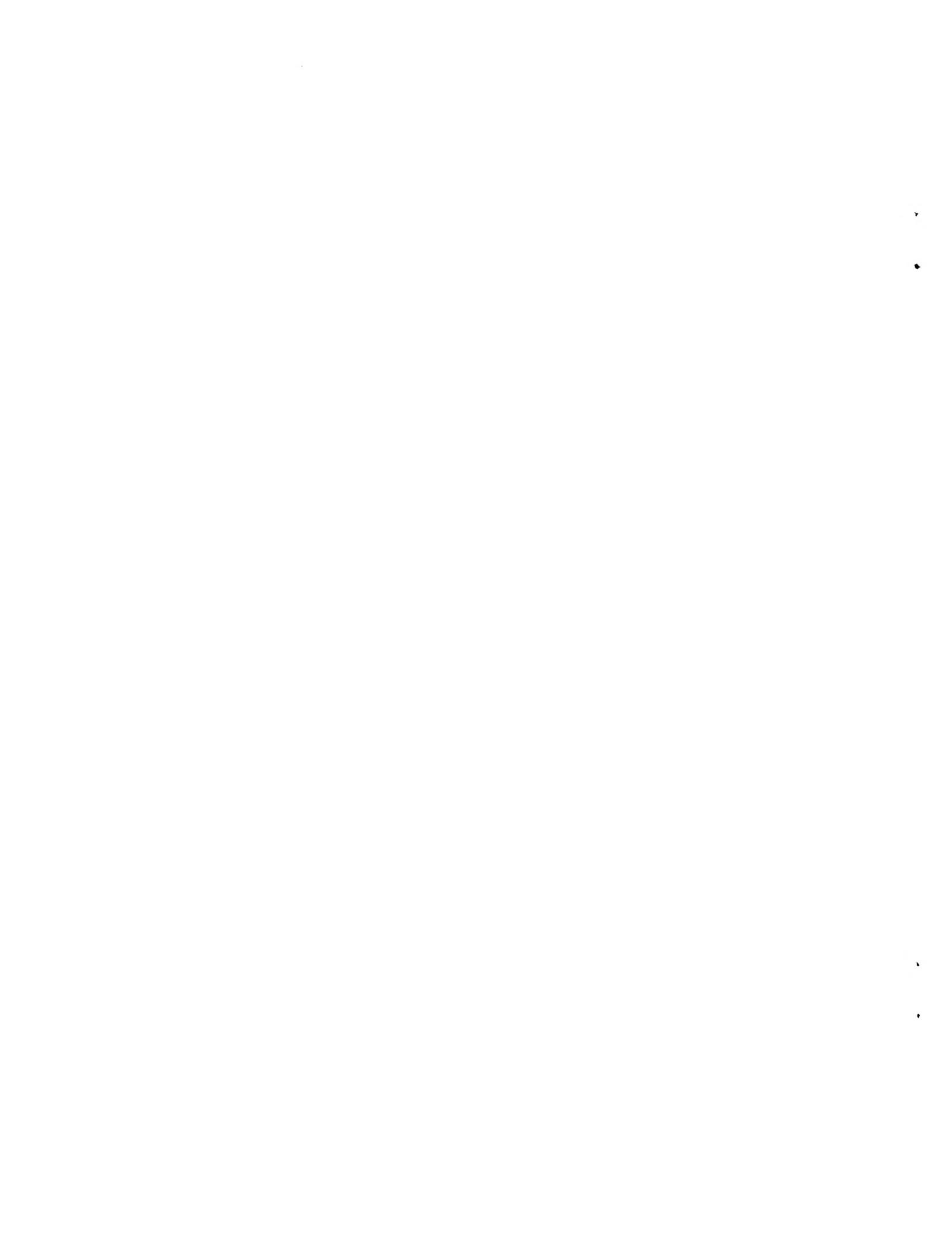
(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 12 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

Ser Ser Cys Arg Ser Gly Cys Trp Gly Ser Ser Trp
1 5 10



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 98/01556

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C07K14/78 C12N15/63 A61K38/39

According to International Patent Classification(IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 443 404 A (GRACE W R & CO ; PENNSYLVANIA MED COLLEGE (US)) 28 August 1991 see the whole document ---	1-8
Y	KLAR E.A.: "F-Spondin: a gene expressed at high levels in the floor plate encodes a secretion protein that promotes neural cell adhesion and neurite extension" CELL, vol. 69, 3 April 1992, pages 95-110, XP002059005 NA US see the whole document ---	9-15
		-/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"g" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 November 1998

Date of mailing of the international search report

01/12/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Groenendijk, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

I National Application No

PCT/FR 98/01556

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
Y	GOBRON E.A.: "SCO-spondin: a new member of the thrombospondin family secreted by the subcommissural organ is a candidate in the modulation of neuronal aggregation" JOURNAL OF CELL SCIENCE, vol. 109, 1996, pages 1053-1061, XP002059006 cited in the application see the whole document ---	9-15
X	MOR E.A.: "Induction of neonatal tolerance by plasmid DNA vaccination of mice" J.CLIN.INVEST., vol. 98, no. 12, 15 December 1996, pages 2700-2705, XP002084526 peptide 21 see page 2701, column 1 ---	1,8,13
X	WO 93 00430 A (RECH SCIENT SNRS CENTRE NAT DE) 7 January 1993 See especially page 42, enchainement XXX and XXXI ---	1
A	WO 94 06464 A (UNIV NEW YORK) 31 March 1994 see claim 8; table 1 -----	1,2,4,8

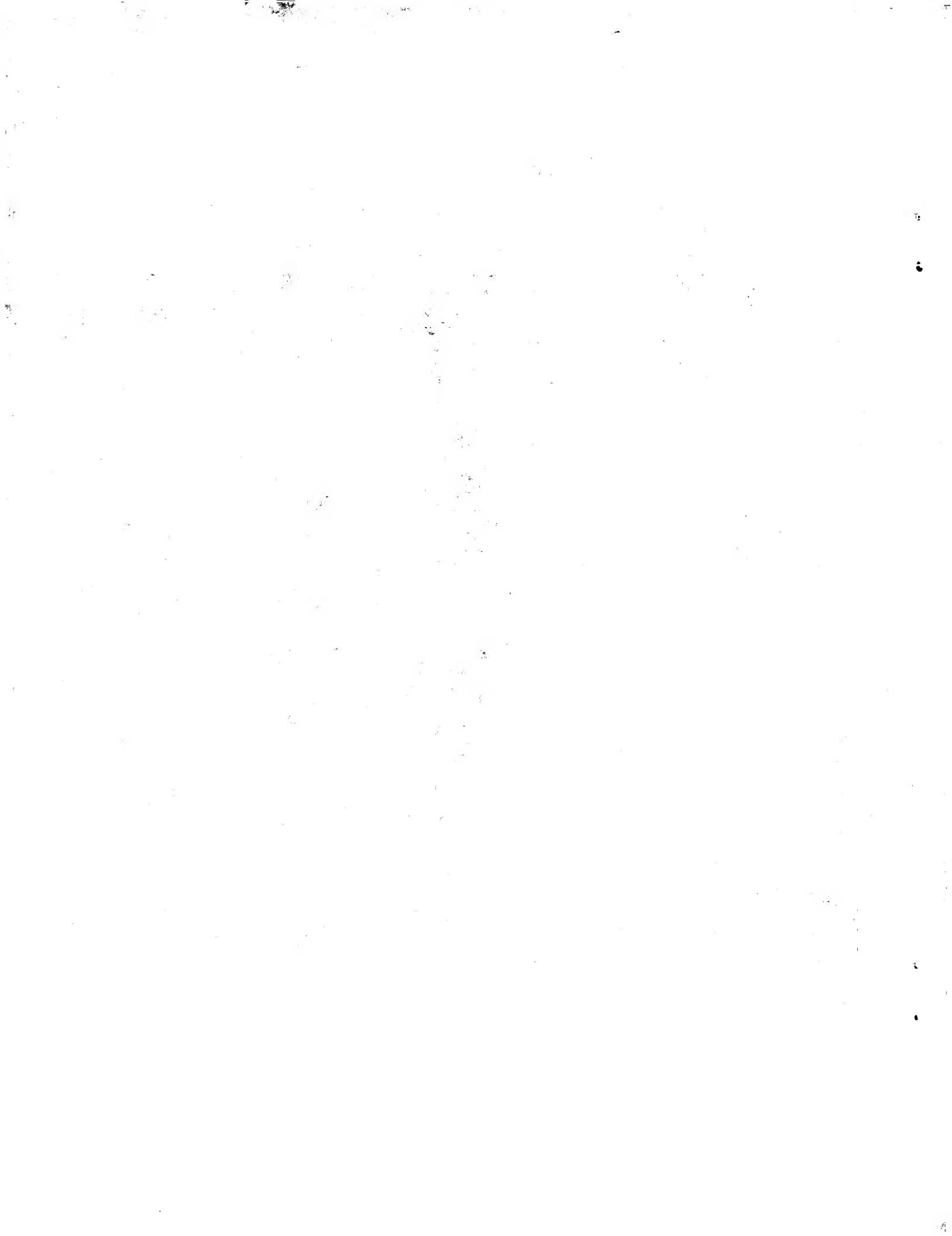
INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l Application No

PCT/FR 98/01556

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
EP 0443404	A 28-08-1991	US US CA JP US US	5190918 A 5200397 A 2036093 A 6107559 A 5426100 A 5648461 A		02-03-1993 06-04-1993 23-08-1991 19-04-1994 20-06-1995 15-07-1997
WO 9300430	A 07-01-1993	FR EP	2678283 A 0546149 A		31-12-1992 16-06-1993
WO 9406464	A 31-03-1994	AU	5130793 A		12-04-1994



RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De ..de Internationale No

PCT/FR 98/01556

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
C1B 6 C07K14/78 C12N15/63 A61K38/39

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 6 C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porte la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 443 404 A (GRACE W R & CO ; PENNSYLVANIA MED COLLEGE (US)) 28 août 1991 voir le document en entier ----	1-8
Y	KLAR E.A.: "F-Spondin: a gene expressed at high levels in the floor plate encodes a secretion protein that promotes neural cell adhesion and neurite extension" CELL, vol. 69, 3 avril 1992, pages 95-110, XP002059005 NA US voir le document en entier ----	9-15
		-/-

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (elle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

16 novembre 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

01/12/1998

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Groenendijk, M

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document Internationale No

PCT/FR 98/01556

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	GOBRON E.A.: "SCO-spondin: a new member of the thrombospondin family secreted by the subcommissural organ is a candidate in the modulation of neuronal aggregation" JOURNAL OF CELL SCIENCE, vol. 109, 1996, pages 1053-1061, XP002059006 cité dans la demande voir le document en entier ----	9-15
X	MOR E.A.: "Induction of neonatal tolerance by plasmid DNA vaccination of mice" J.CLIN.INVEST., vol. 98, no. 12, 15 décembre 1996, pages 2700-2705, XP002084526 peptide 21 voir page 2701, colonne 1 ----	1,8,13
X	WO 93 00430 A (RECH SCIENT SNRS CENTRE NAT DE) 7 janvier 1993 See especially page 42, enchainement XXX and XXXI ----	1
A	WO 94 06464 A (UNIV NEW YORK) 31 mars 1994 voir revendication 8; tableau 1 -----	1,2,4,8

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Date Internationale No

PCT/FR 98/01556

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)			Date de publication
EP 0443404 A	28-08-1991	US	5190918 A		02-03-1993
		US	5200397 A		06-04-1993
		CA	2036093 A		23-08-1991
		JP	6107559 A		19-04-1994
		US	5426100 A		20-06-1995
		US	5648461 A		15-07-1997
-----	-----	-----	-----	-----	-----
WO 9300430 A	07-01-1993	FR	2678283 A		31-12-1992
		EP	0546149 A		16-06-1993
-----	-----	-----	-----	-----	-----
WO 9406464 A	31-03-1994	AU	5130793 A		12-04-1994
-----	-----	-----	-----	-----	-----

